



SKRIPSI

**SINTESIS EMPAT HIDRAZONA DARI
5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN**

M. RIZA GHULAM FAHMI

NRP. 1411 100 127

Dosen pembimbing

Prof. Dr. Mardi Santoso

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2015



FINAL PROJECT

SYNTHESIS OF FOUR HYDRAZONES FROM 5-METHYLISATIN AND 5-NITROISATIN

M. RIZA GHULAM FAHMI

NRP. 1411 100 127

Supervisor

Prof. Dr. Mardi Santoso

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

FACULTY OF MATHEMATICS AND SCIENCES

INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER

SURABAYA

2015

**SINTESIS EMPAT HIDRAZONA DARI
5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN**

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Sains Program Studi S-1
pada Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya

Oleh:

M. RIZA GHULAM FAHMI
NRP. 1411 100 127

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2015**

LEMBAR PENGESAHAN

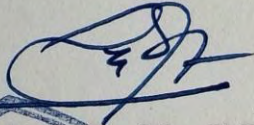
**SINTESIS EMPAT HIDRAZONA DARI
5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN**

SKRIPSI

Oleh:

M. RIZA GHULAM FAHMI
NRP. 1411 100 127

Surabaya, 5 Agustus 2015
Menyetujui,
Dosen Pembimbing,



Prof. Dr. Mardi Santoso
NIP. 19650131 198910 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia,



Hamzah Fansuri, M.Si, Ph.D
NIP. 19691017 199412 1 001

FOUR HYDRAZONES FROM 5-NITROISATIN AND 5-METHYLISATIN

Name's Student : M. Riza Ghulam Fahmi
NRP : 1411 100 127
Deptment : Kimia FMIPA-ITS
Supervisor : Prof. Dr. Mardi Santoso

Abstract

Isatins are precursors for synthesising organic compound, such as hydrazones. Hydrazones with azomentin groups have a bioactivity as antibacterial, anticancer, analgesic, antitumor, and anti-HIV. The research has been done successfully synthesized newly hydrazones are 2-thiophenecarbonylhydrazon-5-nitroisatin, 2-thiophenecarbonylhydrazon-5-methylisatin, 2-thiophenecarbonylhydrazon-(*N*-methyl)-5-nitroisatin, and 2-thiophenecarbonylhydrazon-(*N*-methyl)-5-methylisatin. The fourth hydrazones obtained 92%, 83%, 82%, and 58% yields respectively from reaction 5-methylisatin, 5-nitroisatin, *N*-methyl-5-methylisatin and *N*-methyl-5-nitroisatin with 2-thiophenecarboxylic acid hydrazide in ethanol as solvent with sulfuric acid as catalyst. *N*-methyl-5-methylisatin and *N*-methyl-5-nitroisatin as reagents each obtained from reaction 5-methylisatin and 5-nitroisatin with sodium hydride and dimethyl sulfide in dimethyl sulfoxide as solvent in 88% and 76% yields. The identification of the results of synthesis by using NMR and mass spectroscopy.

Keywords: Isatin, Hydrazone, antibacterial

FOUR HYDRAZONES FROM 5-NITROISATIN AND 5-METHYLISATIN

Nama Mahasiswa : M. Riza Ghulam Fahmi
NRP : 1411 100 127
Jurusan : Kimia FMIPA-ITS
Pembimbing : Prof. Dr. Mardi Santoso

Abstrak

Isatin merupakan prekursor untuk sintesis senyawa organik, seperti hidrazona. Hidrazona dengan gugus azometin memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri. Modifikasi baru dari turunan hidrazona yaitu 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**8b**), 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**8a**), 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**11a**), dan 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**11b**) telah disintesis. Reaksi antara 5-metilisatin (**9a**) dan 5-nitroisatin (**9b**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida dalam pelarut etanol dengan katalis asam sulfat dihasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**8a**) dan 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**8b**) dengan rendemen 75% dan 83%. Metilasi dari 5-metilisatin (**9a**) dan 5-nitroisatin (**9b**) menghasilkan (*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) dan (*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dengan rendemen 76% dan 89%, yang kemudian direaksikan dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida diperoleh masing-masing rendemen 57% dan 87%. Struktur dari hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan uji titik leleh, ^1H dan ^{13}C NMR, dan spektroskopi masa.

Kata kunci: Isatin, Hidrazona, Antibakteri

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah Tugas Akhir yang berjudul **“Sintesis Empat Hidrazona Dari 5-Metilisatin dan 5-Nitroisatin”**. Penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Mardi Santoso dan Arif Fadlan, S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penyusunan naskah Skripsi ini.
2. Hamzah Fansuri, M.Si, Ph.D selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan fasilitas selama penyusunan naskah Tugas Akhir ini.
3. Dra. Ratna Edianti MS., Ph. D selaku Ketua Program Studi S-1 Jurusan Kimia FMIPA ITS.
4. Prof. Dr. Taslim Ersam, M.S. selaku Kepala Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis yang telah memberikan fasilitas selama penelitian.
5. Dra. Yulfi Zetra, M.Si selaku dosen wali atas semua pengarahannya.
6. LPPM ITS atas dana penelitian yang diberikan melalui skim Penelitian Pemula PNBP ITS 2014.
7. Tegar Achsendo, S. Farm dari Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga dan Elvira dari Kimia ITB yang telah membantu dalam melakukan analisis menggunakan spektrometer NMR.
8. Dra. Puspa Dewi Narrij Lotulung, M. Eng dan Nandang Sutiana, A. Md dari Pusat Penelitian Kimia LIPI yang telah membantu dalam melakukan analisis menggunakan spektrometer LC MS-ESI.
9. ULP Universitas Airlangga dan Dr. Mohammad Holil dari PT. Gelora Djaja yang telah membantu dalam melakukan analisis menggunakan spektrometer GC MS.
10. Keluarga tercinta yang selalu memberi dukungan dan doa.

11. Teman-teman mahasiswa Kimia FMIPA ITS angkatan 2011 terutama wowok crew yang telah bersama-sama menuntut ilmu kimia selama 4 tahun di ITS.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa naskah Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis terbuka terhadap saran yang membangun. Semoga Skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 6 Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	6
1.3 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Isatin (1) dan Turunannya	7
2.2 Hidrazona	9
2.3 Kromatografi	10
2.4 Identifikasi Hasil Sintesis	11
2.4.1 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti	11
2.4.2 Spektroskopi Massa	12
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	15
3.1 Alat dan Bahan	15
3.1.1 Alat	15

3.1.2	Bahan	15
3.2	Prosedur	15
3.2.1	Metilasi 5-Metilisatin (10)	15
3.2.2	Metilasi 5-Nitroisatin (8a)	16
3.2.3	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a)	16
3.2.4	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b)	17
3.2.5	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a)	17
3.2.6	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-nitroisatin (12b)	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		19
4.1	Metilasi 5-Metilisatin (10)	19
4.2	Metilasi 5-Nitroisatin (8a)	27
4.3	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a)	34
4.4	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b)	40
4.5	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a)	45
4.6	Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-nitroisatin (12b)	52

BAB V KESIMPULAN	59
5.1 Kesimpulan	59
5.1 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Analisa retrosintesis hidrazona (9a-b) dan (12a-b)	5
Gambar 2.1	Sintesis isatin (1) dengan metode Stolle	9
Gambar 2.2	Contoh reaksi pembentukan hidrazona	9
Gambar 2.3	Data pergeseran kimia dalam ^1H NMR	12
Gambar 2.4	Data pergeseran kimia dalam ^{13}C NMR	12
Gambar 4.1	Hasil pemantauan metilasi 5-metilisatin (10) dengan KLT	20
Gambar 4.2	Hasil uji kemurnian padatan hasil metilasi 5-metilisatin (10) dengan KLT	20
Gambar 4.3	Kromatogram <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a) hasil sintesis	21
Gambar 4.4	Spektrum massa <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a) hasil sintesis	22
Gambar 4.5	Mekanisme reaksi pembentukan <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a) dan <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b)	23
Gambar 4.6	Fragmentasi <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a)	24
Gambar 4.7	Spektrum ^1H NMR <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a) hasil sintesis	25
Gambar 4.8	Spektrum ^{13}C NMR <i>N</i> -metil-5-metilisatin (13a) hasil sintesis	26
Gambar 4.9	Hasil pemantauan metilasi 5-nitroisatin (8a) dengan KLT	28
Gambar 4.10	Hasil uji kemurnian padatan hasil metilasi 5-nitroisatin (8a) dengan KLT	28
Gambar 4.11	Kromatogram <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis	29
Gambar 4.12	Spektrum massa <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis	29
Gambar 4.13	Fragmentasi <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b)	31
Gambar 4.14	Spektrum ^1H NMR <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis	32

Gambar 4.15	Spektrum ^{13}C NMR <i>N</i> -metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis	33
Gambar 4.16	Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a) dengan KLT	35
Gambar 4.17	Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a) dengan KLT	35
Gambar 4.18	Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a) hasil sintesis	36
Gambar 4.19	Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a) hasil sintesis	36
Gambar 4.20	Mekanisme reaksi pembentukan hidrazona (9a-b) dan (12a-12b)	38
Gambar 4.21	Spektrum ^1H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a) hasil sintesis	39
Gambar 4.22	Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b) dengan KLT	41
Gambar 4.23	Hasil uji kemurnian padatan hasil 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b) dengan KLT	41
Gambar 4.24	Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b) hasil sintesis	42
Gambar 4.25	Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b) hasil sintesis	42
Gambar 4.26	Spektrum ^1H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b) hasil sintesis	44
Gambar 4.27	Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a) dengan KLT	46
Gambar 4.28	Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a) dengan KLT	46
Gambar 4.29	Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a) hasil sintesis	47

Gambar 4.30	Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon- (<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a) hasil sintesis	48
Gambar 4.31	Fragmentasi 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> - metil)-5-metilisatin (12a)	50
Gambar 4.32	Spektrum ¹ H NMR 2- tiofenakarbonilhidrazon- (<i>N</i> -metil)-5-metilisatin (12a) hasil sintesis	51
Gambar 4.33	Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonil hidrazon-(<i>N</i> -metil)-5-nitroisatin (12b) dengan KLT	53
Gambar 4.34	Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5- nitroisatin (12b) dengan KLT	53
Gambar 4.35	Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon- (<i>N</i> -metil)-5-nitroisatin (12b) hasil sintesis	54
Gambar 4.36	Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon- (<i>N</i> -metil)-5-nitroisatin (12b) hasil sintesis	55
Gambar 4.37	Fragmentasi 2-tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> - metil)-5-nitroisatin (12b)	57
Gambar 4.38	Spektrum ¹ H NMR 2- tiofenakarbonilhidrazon-(<i>N</i> -metil)-5- nitroisatin (12b) hasil sintesis	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Data bioaktivitas turunan isatin (2a) terhadap <i>S. aureus</i>	2
Tabel 1.2	Data efektifitas hidrazona (3) terhadap <i>E. coli</i> berdasar zona hambat	2
Tabel 1.3	Perbandingan data bioaktivitas hidrazona (4) terhadap amoksilina (5) (MIC dalam $\mu\text{g}/\text{cm}^{-3}$)	3
Tabel 1.4	Data bioaktifitas turunan hidrazona (6-7) (MIC dalam $\mu\text{g}/\text{mL}$)	4
Tabel 1.5	Data bioaktivitas isatin (1) dan turunan (8a-c) terhadap sel kanker leukemia U937	5
Tabel 4.1	Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (9a) dengan hidrazona (6b)	37
Tabel 4.2	Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (9b) dengan hidrazona (9a)	43
Tabel 4.3	Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (12a) dengan hidrazona (9a)	49
Tabel 4.4	Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (12b) dengan hidrazona (9b), (9a), dan (12a) (dalam ppm)	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Perhitungan rendemen

67

Lampiran B. Skema kerja

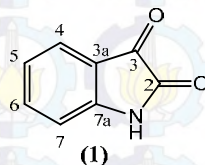
73

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

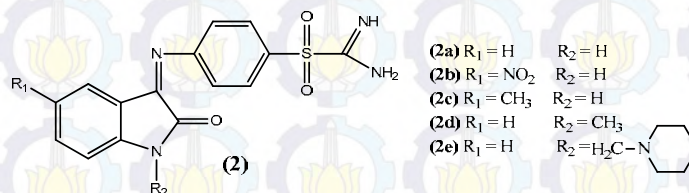
Pengembangan senyawa-senyawa antibakteri baru sangat diperlukan untuk mengatasi infeksi akut yang disebabkan bakteri-bakteri yang resistan terhadap obat-obat komersial (Prakash *et al.*, 2009). Isatin (**1**) merupakan senyawa dengan massa molekul kecil dengan gugus fungsi α,β -dikarbonil pada posisi C-2 dan C-3 yang diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri, analgesik, antikanker, dan antituberkulosis (Unger *et al.*, 2001; Ali *et al.*, 2014). Isatin (**1**) dan turunannya banyak dimanfaatkan sebagai prekursor dalam sintesis (Cherchiaro *et al.*, 2005). Prakash *et al.* (2009) melaporkan bahwa keberadaan gugus *N*-metil dan gugus pensubstitusi pada C-5 dari isatin (**1**) diketahui dapat meningkatkan bioaktivitas. Singh *et al.* (2010) melaporkan bahwa turunan isatin (**2a-d**) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Tabel 1.1 menerangkan bahwa senyawa dengan gugus pensubstitusi nitro atau metil pada C-5 atau gugus *N*-metil yang masing-masing dijumpai pada turunan isatin (**2b-d**) memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* yang lebih baik dari pada turunan isatin (**2a**) dan (**2e**).



Hidrazona merupakan kelompok senyawa organik dengan gugus $=C=N-N-$ diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antikanker, antitumor, anti-HIV, dan analgesik (Belskaya *et al.*, 2010). Nathani *et al.* (2011) melaporkan bahwa hidrazona (**3a**) dengan gugus pensubstitusi C-5 gugus metil (**3a**) atau nitro (**3d**) memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang lebih

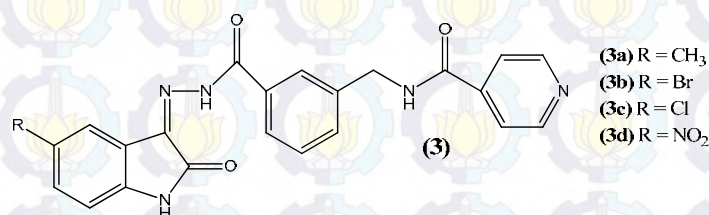
baik terhadap bakteri *Escherichia coli*, sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 1.2. Sandra *et al.* (2008) melaporkan sebagaimana dapat dilihat pada tabel 1.3, bahwa hidrazona berupa isatin-3-fenilhidrazin (**4**) memiliki bioaktivitas antibakteri yang lebih baik dari pada amoksilin.

Tabel 1.1 Data bioaktivitas turunan isatin (**2a**) terhadap *S. aureus*



Senyawa	MIC (mg/mL)
(2a)	300
(2b)	275
(2c)	250
(2d)	275
(2e)	350

Tabel 1.2 Data efektivitas hidrazona (**3**) terhadap *E. coli* berdasar zona hambat

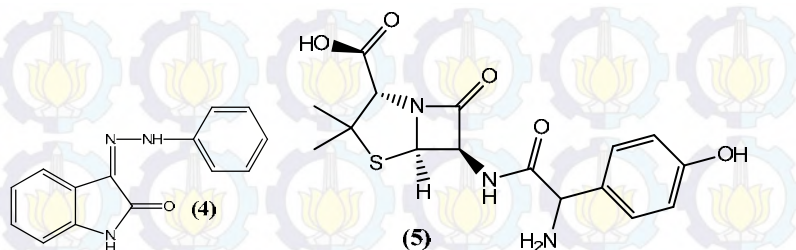


Hidrazona	Efektivitas
(3a)	++
(3b)	+
(3c)	+
(3d)	++

Keterangan :

+++ : Sangat efektif
 ++ : Sedang efektif
 + : Kurang efektif
 - : Tidak efektif

Tabel 1.3 Perbandingan data bioaktivitas hidrazona (4) terhadap amoksisilin (5) (MIC dalam $\mu\text{g}/\text{cm}^{-3}$)



Bakteri	Hidrazona (4)	Amoksisilin (5)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 95	100	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2853	240	1020
<i>Proteus vulgaris</i>	200	500
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	160	-

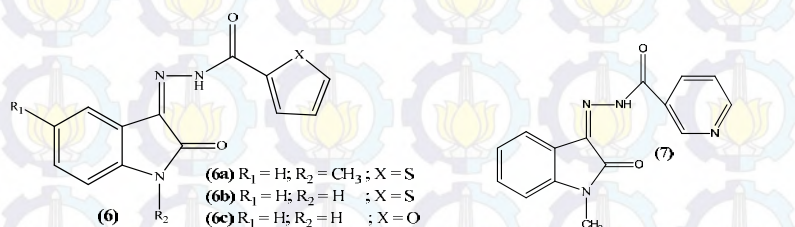
Rodriguez-Arguelles *et al.* (2007) melaporkan bahwa 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)isatin (**6a**) memiliki bioaktivitas terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* yang baik dari pada (*Z*)-*N'*-(2-oksoindolin-3-ilidina)nikotino hidrazida (**7**). Hal ini membuktikan bahwa hidrazona dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang baik dari pada gugus piridinil. Rodriguez-Arguelles *et al.* (2009) melaporkan bahwa 2-tiofenakarbonilhidrazon-isatin (**6b**) dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang baik dari pada senyawa 2-furankarbonilhidrazon-isatin (**6c**) dengan gugus furanil. Hal ini membuktikan bahwa hidrazona dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang lebih baik dari pada senyawa dengan gugus piridinil dan furanil.

Gugus pensubstitusi isatin (**1**) pada posisi C-5 dan *N*-metil diketahui juga mempengaruhi aktivitas sebagai antikanker leukemia U937. 5-Nitroisatin (**8a**) dan 1-metilisatin (**8c**) memiliki

bioaktivitas yang lebih baik dari pada isatin (**1**) dan 5-metoksiisatin (**8b**) (Vine *et al.*, 2007).

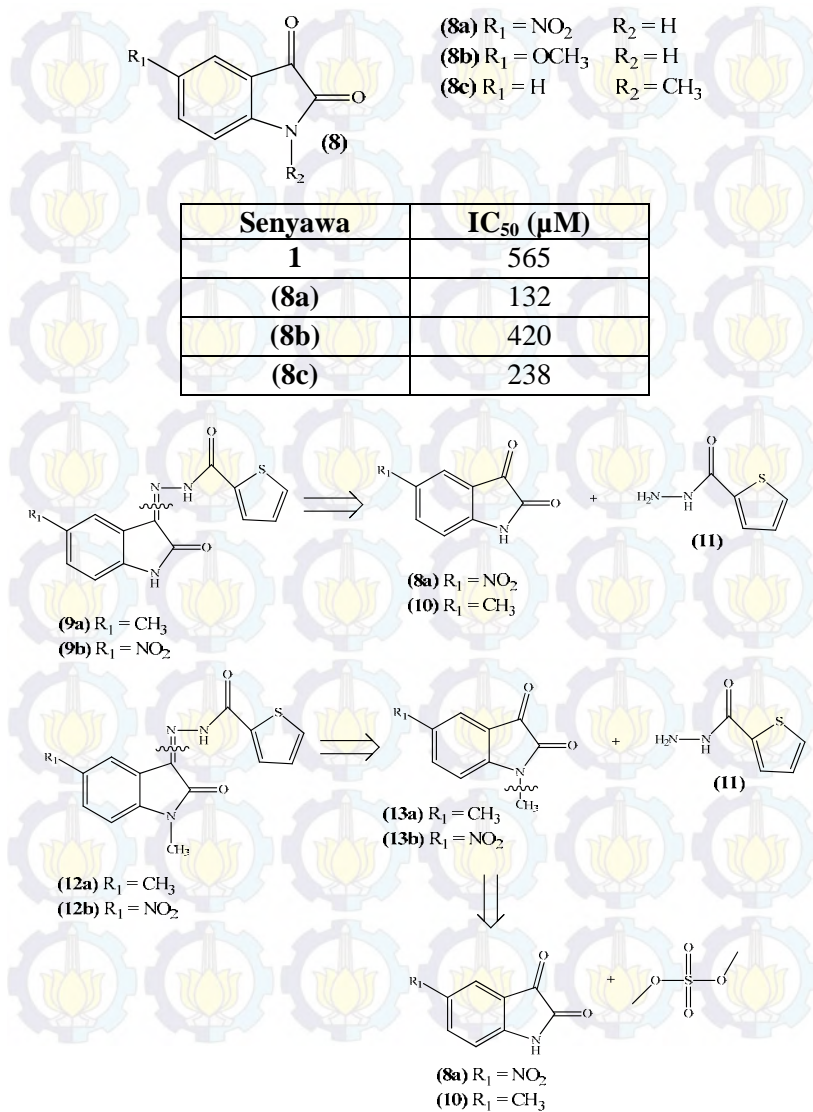
Studi literatur yang telah dilakukan mendapatkan bahwa sintesis dan bioaktivitas hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**) belum pernah dilaporkan. Hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**) diperkirakan mempunyai bioaktivitas yang lebih baik dari pada hidrazona (**6a-b**). Sintesis hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**) dapat dilakukan dengan pendekatan analisis retrosintesis seperti dapat dilihat pada Gambar 1.1.

Tabel 1.4 Data bioaktivitas turunan hidrazona (**6-7**) (MIC dalam $\mu\text{g/mL}$)



Senyawa	<i>B. subtilis</i>
(6a)	6
(7)	>200
(6b)	100
(6c)	>200

Tabel 1.5 Data bioaktivitas isatin (**1**) dan turunan (**8a-c**) terhadap sel kanker leukemia U937



Gambar 1.1 Analisis retrosintesis hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka permasalahan yang diangkat dalam penelitian adalah bagaimana mensintesis hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**) dengan pendekatan analisis retrosintesis seperti terlihat pada Gambar 1.1.

1.3 Tujuan Penelitian

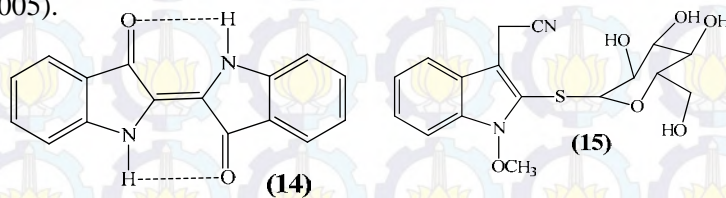
Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mendapatkan senyawa hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**) dengan pendekatan analisis retrosintesis seperti terlihat pada Gambar 1.1.

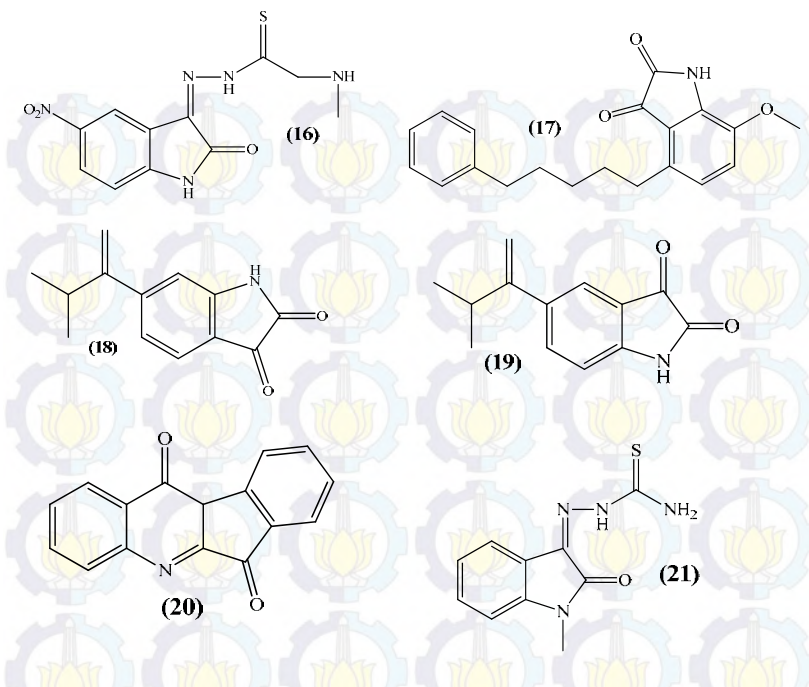
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

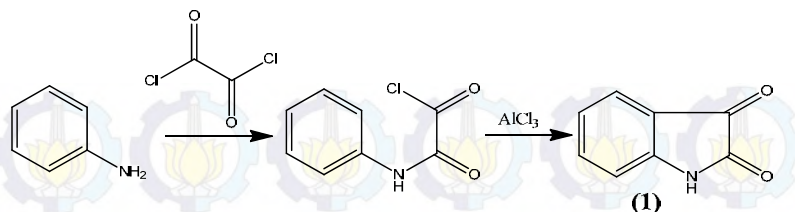
2.1 Isatin (1) dan turunannya

Isatin (1) atau 1*H*-indola-2,3-diona merupakan senyawa organik yang memiliki rumus molekul $C_8H_5NO_2$ dengan massa molekul 147,14 g/mol. Isatin (1) berbentuk padatan berwarna kuning sampai merah dengan titik leleh 200°C (Pal *et al.*, 2011). Isatin (1) pertama kali didapatkan oleh Erdman dan Laurent pada tahun 1984 sebagai hasil oksidasi indigo (14) dengan asam nitrat dan asam kromat (Jahrapour *et al.*, 2007). Kerangka isatin (1) dapat dijumpai dalam senyawa-senyawa bahan alam dari tumbuhan *Isatis indigotica* (Cruciferae), *Calanthe discolor* LINDL, dan *Melochia tumentos* masing-masing sebagai *N*-metoksi-indola-3-asetonitril-2- β -D-glukopiranosida (15), triptanthrin (16), dan alkaloida 7-metoksi-4-(5-fenilpentil)isatin (17). Bakteri *Streptomyce albus* diketahui mengandung 6-(3-metilbuten-2-il)isatin (18), sedangkan 5-(3-metilbuten-2-il)isatin (19) diketahui terkandung dalam jamur *Chaetomium globosum* (da Silva *et al.*, 2001). (Z)-*N*-metil-2-(5-nitro-2-oksoindolin-3-ilidena)hidrazinakarbotioamida (20) dan metisazona (21) merupakan senyawa-senyawa berkerangka isatin (1) yang diperoleh dari jalur sintesis (Ali *et al.*, 2014; Surendra *et al.*, 2005).

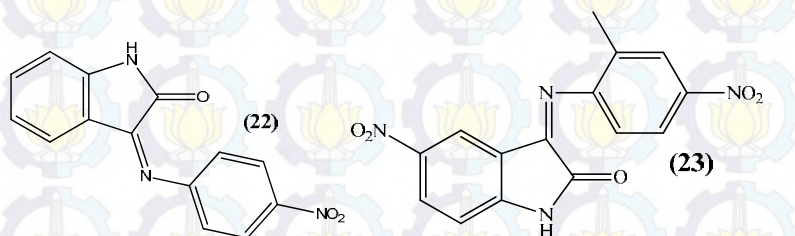




Isatin (**1**) mempunyai dua gugus karbonil pada posisi C-2 dan C-3. Gugus karbonil pada posisi C-2 berkarakter amida, sedangkan gugus karbonil pada posisi C-3 adalah golongan keton (Acheson, 1976). Zaranappa *et al.* (2011) melaporkan bahwa isatin (**1**) dengan 4-nitroanilin diperoleh (Z)-3-((4-nitrofenil)imino)indolin-2-on (**22**), reaksi ini menunjukkan bahwa karbonil pada posisi C-3 dari isatin (**1**) reaktif sehingga mudah diserang nukleofil. Rao *et al.* (2012) mereaksikan isatin (**1**) dengan 2-metil-4-nitroanilin sehingga diperoleh 5-nitro-3-((4-nitrofenil)imino)indolin-2-on (**23**). Isatin (**1**) dapat diperoleh melalui metode Stolle sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2.1 yang melibatkan reaksi anilina dengan oksalil klorida membentuk intermediat klorooksalilana, yang selanjutnya mengalami siklisasi dalam kondisi asam (Beckman, 2005).

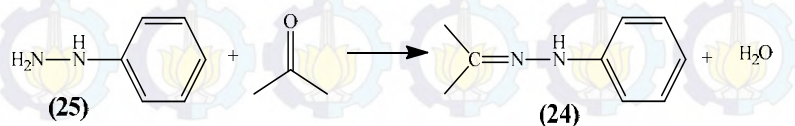


Gambar 2.1 Sintesis isatin (1) dengan metode Stolle



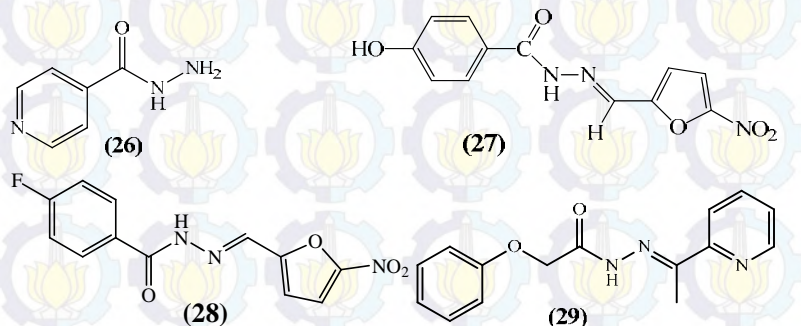
2.2 Hidrazona

Hidrazona dapat diperoleh dari reaksi hidrazina dengan keton atau aldehida. Hidrazona mengandung dua atom nitrogen dengan sifat berbeda yang saling berikatan dan ikatan C=N yang terkonjugasi dengan elektron bebas nitrogen. Kedua atom nitrogen dalam struktur hidrazona bersifat nukleofilik, sedangkan atom karbon dalam hidrazona berkarakter elektrofilik dan nukleofilik (Xin Su *et al.*, 2014; Belskaya *et al.*, 2010). 1-Fenil-2-(propana-2-ilidena)hidrazona (**24**) sebagaimana yang dapat dilihat pada Gambar 2.2 adalah hasil reaksi dari fenilhidrazina (**25**) dengan keton 2-propanon (Solomon *et al.*, 2011).



Gambar 2.2 Contoh reaksi pembentukan hidrazona

Hidrazona memiliki bioaktivitas, seperti asam isonikotinik hidrazida (**26**) dan nifuroksazida (**27**) masing-masing sebagai anti tuberkolosis dan antiseptik (Rollas *et al.*, 2007); asam 4-florobenzoat [(5-nitro-2-furanil)metilena]hidrazida (**28**) sebagai anti mikrobakterial (Rollas *et al.*, 2002) dan 2-asetilpiridina fenoksiasetil hidrazona (**29**) yang digunakan sebagai ligan dari logam Mn(II) (Bekheit *et al.*, 2013).



2.3 Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan dimana komponen-komponen yang akan dipisahkan terdistribusi diantara fasa diam, dan fasa gerak yang mengalir sepanjang fasa diam tersebut (Sastrohamidjojo, 1985). Kromatografi kolom adalah kromatografi yang menggunakan kolom sebagai fasa diam. Cara kerjanya adalah dengan mengalirkan pelarut ke dalam kolom yang berisi sampel. Panjang dari kolom kromatografi yang baik adalah sepuluh kali lipat lebih besar dari ukuran diameternya (Hardjono, 1985).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode kromatografi yang paling sederhana dan banyak digunakan. KLT umumnya menggunakan plat kaca atau alumunium, dengan fasa diam berupa silika gel. Pipa kapiler biasanya digunakan untuk menotolkan senyawa uji pada lempeng kaca (Rudi, 2010). Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan KLT adalah tebal dan

kerataan lapisan fasa diam, fasa gerak, dan struktur senyawa yang sedang dipisahkan (Sastromidjojo, 1991).

2.4 Identifikasi Hasil Sintesis

2.4.1 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti

Spektroskopi resonansi magnetik inti (*nuclear magnetic resonance*, NMR) merupakan metoda yang dapat digunakan untuk menentukan struktur senyawa organik berdasarkan medan magnet yang berasal dari spin inti senyawa (Rouessac, 2007). Spektroskopi NMR bekerja berdasarkan serapan gelombang radio oleh inti-inti senyawa dalam sebuah medan magnet yang kuat sehingga terjadi fenomena resonansi. Hasil pengukuran spektroskopi NMR berupa nilai geseran kimia (*chemical shift*) yang merupakan perbedaan frekuensi absorpsi yang disebabkan oleh perbedaan letak proton (Hart *et al.*, 1997; Solomon, 2010). Pergeseran kimia dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan letak gugus fungsi dalam struktur senyawa organik. Nilai pergeseran kimia dapat dinyatakan dalam satuan ppm dengan simbol δ , dan besarnya bergantung pada lingkungan kimia suatu proton. Jenis pelarut dan adanya ikatan hidrogen mempengaruhi nilai dari δ (Sastrohamidjojo, 2001).

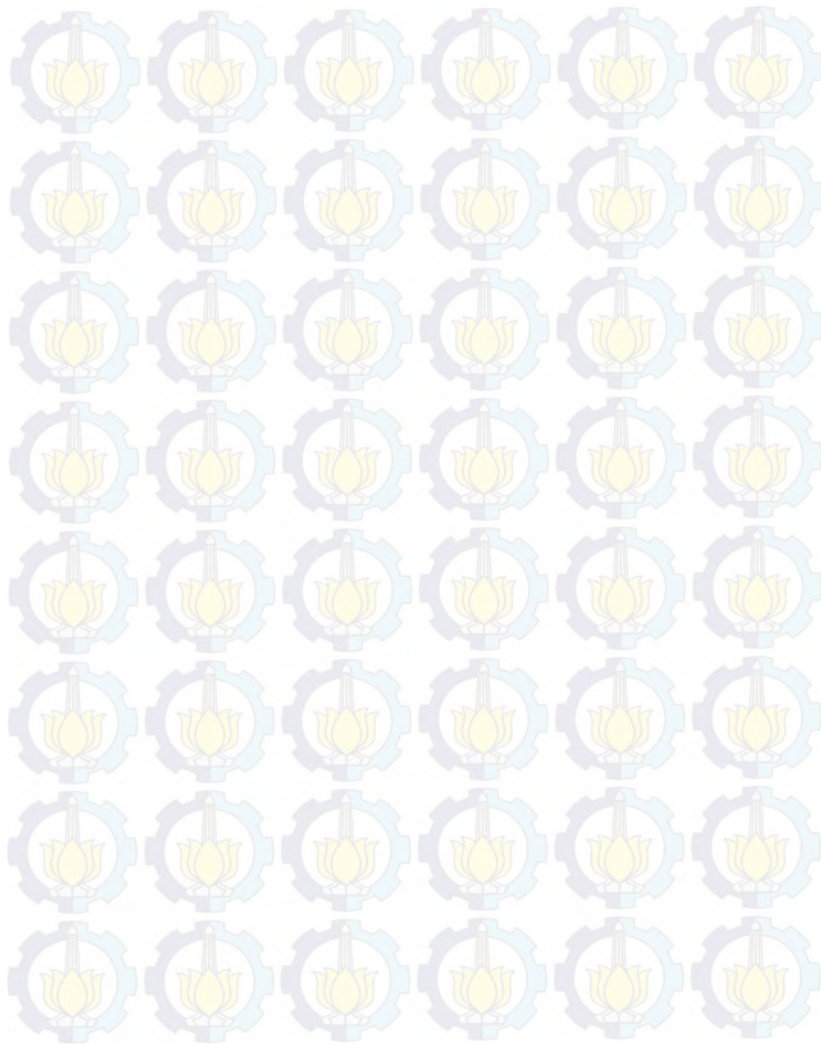
Spektroskopi NMR yang umum dikenal adalah ^1H NMR dan ^{13}C NMR. Spektroskopi ^1H NMR memberikan informasi berupa signal, pergeseran kimia, jumlah atom hidrogen, dan spin-spin proton tetangga (Hart *et al.*, 1997). Nilai pergeseran kimia ^1H NMR pada umumnya adalah 0-12 ppm (Hoffman, 2004). Spektroskopi ^{13}C NMR menyajikan data tentang struktur atom karbon dalam sebuah molekul organik, dan posisi dan jumlah atom karbon dalam suatu senyawa organik (Sudjadi, 1985). Spektrum ^{13}C NMR pada lazimnya mempunyai nilai pergeseran kimia sebesar 0-220 ppm (Hoffman, 2004).

Pengukuran spektroskopi NMR dilakukan menggunakan senyawa standar sebagai pembanding. Tetrametilsilan (TMS) merupakan senyawa yang sering digunakan sebagai pembanding karena bersifat inert, mudah menguap, larut dalam berbagai

spektrometer massa diikuti dengan pemisahan dan deteksi ion-ion yang terbentuk berdasarkan muatan/massa (Solomon, 2010). Cara kerja spektrometer massa tumbukan elektron (*Electron Impact*) adalah sebagai berikut. Tahap awal adalah sampel dimasukkan ke dalam ruang sampel dan dipanaskan sehingga sampel berubah menjadi fase gas. Sampel selanjutnya masuk ke ruang ionisasi dan ditembak dengan elektron berenergi tinggi (70 eV) sehingga satu elektron dalam sampel terpisah sehingga terbentuk ion molekul yang tidak stabil dan terpecah menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil. Ion-ion positif yang terbentuk selanjutnya melewati celah-celah kecil dengan sangat cepat, kemudian dibelokkan medan magnet, sehingga terjadi pemisahan fragmen-fragmen sesuai dengan rasio massa per muatannya. Ion-ion yang telah terpisah sesuai dengan massa per muatan selanjutnya dideteksi massanya dengan detektor (Fessenden, 1999).

Spektrometer massa *Electrospray Ionization* (ESI) biasanya disebut *Atmospheric Pressure Ionization* (API) karena dioperasikan di bawah tekanan atmosfer. Sampel dalam larutan (biasanya bersifat polar, pelarut mudah menguap) dimasukkan ke dalam sumber ion yang dilingkupi dengan aliran gas nitrogen yang disebut *nebulizing gas* menggunakan kapiler yang terbuat dari *stainless steel*. Ujung dari kapiler memiliki tegangan tinggi yang ditimbulkan elektroda konter dapat menghasilkan medan magnet hingga lima kV/cm. Larutan sampel keluar dari kapiler membentuk aerosol berupa tetesan-tetesan bermuatan yang selanjutnya dibawa *nebulizing gas* (Silverstein *et al.*, 2005).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Penelitian yang dilaksanakan menggunakan alat-alat berupa erlenmeyer, gelas piala, labu alas bulat, labu leher tiga, termometer, pipet ukur, pipet tetes, pengaduk, kertas whatman No. 41, *magnetic stirrer*, *rotary evaporator* Buchi R-11, desikator, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, 1.05554), lampu UV λ 254 dan 366 nm, spektrometer NMR DELTA2_NMR JEOL RESONANCE 500 MHz, *melting point apparatus* Fischer John, alat refluks, LC-MS (ESI) Mariner Biospectrometry Hitachi L 6200 dengan kolom C18 (RP 18) Phenomenex, Agilent 6980N Network GC sistem dengan autosampler, spektrometer massa ESI Waters LCP Premier XE, GC MS HP 6890, spektrometer NMR Agilent 500 MHz untuk ¹H NMR dan 125 MHz untuk ¹³C.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah isatin (**2a**) (Aldrich 114618), 5-nitroisatin (**8a**) (Aldrich N17807), 5-metilisatin (**10**) (Aldrich 222429), asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (Aldrich T1388), aquades, dimetil sulfoksida anhidrat (Merck 8.02912), natrium hidrida (NaH) (Aldrich 452912), dimetil sulfat (Merck 8.03071), natrium sulfat anhidrat (Merck 1.06639), etanol (Merck 1.00983), asam sulfat, diklorometana, etil asetat, aseton, dan *n*-heksana.

3.2 Prosedur

3.2.1 Metilasi 5-Metilisatin (**10**)

Metilasi 5-metilisatin (**10**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur metilasi isatin (**1**) (Fadlan *et al.*, 2014). 5-metilisatin (**10**) (0,23 gram; 1,4 mmol), natrium hidrida (0,0672 gram; 2,8 mmol), dan 10 mL dimetil sulfoksida anhidrat dalam labu

alas bulat diaduk pada suhu kamar selama 90 menit. Campuran selanjutnya ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,13 mL; 1,4 mmol), dan diaduk lebih lanjut selama 210 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi ditambah air dingin (50 mL), dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, dan diuapkan dalam *rotary evaporator*. Hasil sintesis selanjutnya diuji kemurnian dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi menggunakan spektrometer NMR dan MS.

3.2.2 Metilasi 5-Nitroisatin (8a)

Metilasi 5-nitroisatin (**8a**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur metilasi 5-metilisatin (**10**). 5-Nitroisatin (**8a**) (0,23 gram; 1,2 mmol), natrium hidrida (0,057 gram; 2,4 mmol), dan 10 mL dimetil sulfoksida anhidrat dalam labu alas bulat diaduk pada suhu kamar selama 90 menit. Campuran selanjutnya ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,11 mL, 1,2 mmol), dan diaduk lebih lanjut selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi ditambah air dingin (50 mL) dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, dan diuapkan dalam *rotary evaporator*. Hasil sintesis selanjutnya diuji kemurnian dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi menggunakan spektrometer NMR dan MS.

3.2.3 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis isatin-2-tiofenakarbonilhidrazon (**6a**) (Fadlan *et al.*, 2014). Larutan 5-metilisatin (**10**) (0,13 gram; 0,80 mmol) dalam 20 ml etanol ditempatkan dalam labu alas bulat, ditambah tiga tetes asam sulfat pekat dan direfluks selama 20 menit. Larutan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam

10 mL etanol selanjutnya ditambahkan, dan larutan direfluks lebih lanjut pada suhu 78 °C selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi didinginkan dan hingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Hasil yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator, diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan MS.

3.2.4 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b)

Sintesis senyawa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Larutan 5-nitroisatin (**8a**) (0,15 gram; 0,80 mmol) dalam 20 ml etanol ditempatkan dalam labu alas bulat, ditambah tiga tetes asam sulfat pekat, dan direfluks selama 20 menit. Larutan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam 10 mL etanol selanjutnya ditambahkan, dan campuran direfluks lebih lanjut pada suhu 78 °C selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Hasil yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator, diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan MS.

3.2.5 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-3-(N-metil)-5-metilisatin (12a)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-3-(N-metil)-5-metilisatin (**12a**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Larutan N-metil-5-metilisatin (**13a**) (0,14 gram; 0,80 mmol) dalam 20 ml etanol ditempatkan dalam labu alas bulat, ditambah tiga tetes asam sulfat pekat, dan direfluks selama 20 menit. Larutan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam 10 mL etanol selanjutnya ditambahkan, dan larutan direfluks lebih lanjut pada suhu 78 °C selama 150 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi didinginkan

sehingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Hasil yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator, diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan MS.

3.2.6 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Larutan *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) (0,10 gram; 0,50 mmol;) dalam 20 ml etanol ditempatkan dalam labu alas bulat, ditambah tiga tetes asam sulfat pekat, dan direfluks selama 20 menit. Asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,0710 gram ; 0,50 mmol) dalam 10 mL etanol selanjutnya ditambahkan, dan larutan direfluks lebih lanjut pada suhu 78 °C selama 180 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi didinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Hasil yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator, diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan MS.

BAB IV

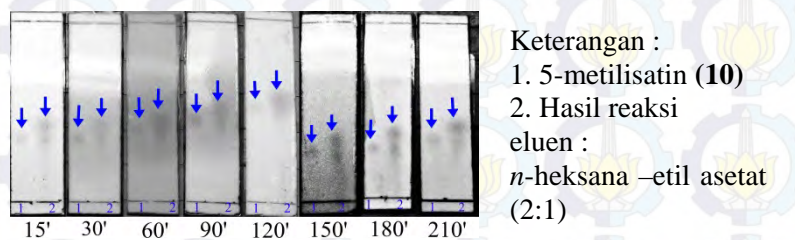
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Metilasi 5-Metilisatin (10)

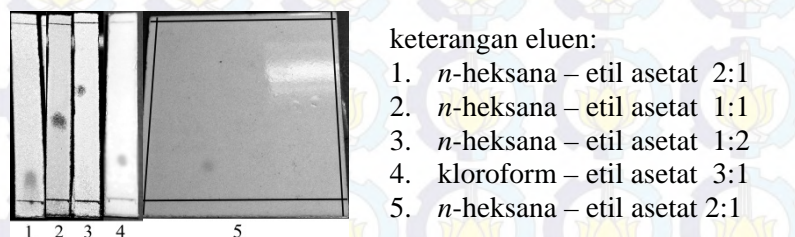
Metilasi 5-metilisatin (**10**) dilakukan dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah mereaksikan 5-metilisatin (**10**) (0,23 gram; 1,4 mmol) dan natrium hidrida (0,0672 gram; 2,8 mmol) dalam dimetil sulfoksida anhidrat (10 mL) pada suhu kamar selama 90 menit. Tahap kedua adalah hasil reaksi pada tahap pertama ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,13 mL; 1,4 mmol), dan diaduk lebih lanjut pada suhu kamar (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi metilasi 5-metilisatin (**10**) pada tahap kedua sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.1 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk dalam waktu reaksi 30 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai R_f yang berbeda dengan nilai R_f 5-metilisatin (**10**), tetapi masih terdapat 5-metilisatin (**10**) yang belum bereaksi. Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 60-180 menit yang ditandai dengan semakin tebalnya noda hasil reaksi dan menipisnya noda 5-metilisatin (**10**). Reaksi berjalan tuntas pada menit 210. Hasil reaksi selanjutnya ditambah aquades dingin (50 mL), dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, diuapkan pelarutnya menggunakan *rotatory evaporator*, dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna merah sebanyak 0,22 gram.

Hasil reaksi metilasi 5-metilisatin (**10**) selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT (Gambar 4.2) yang menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni, yang ditandai dengan noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menunjukkan rentang titik leleh sebesar 136-137 °C yang memperkuat hasil uji kemurnian dengan

KLT bahwa hasil sintesis merupakan senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar $\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Juwita, 2008).



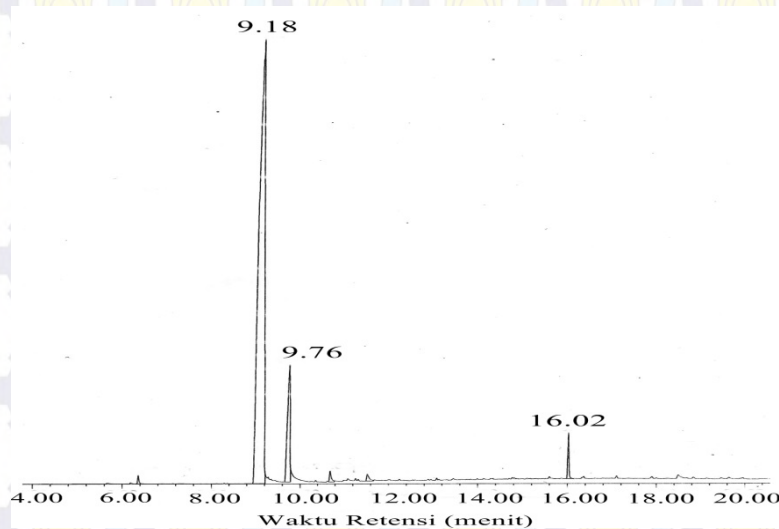
Gambar 4.1 Hasil pemantauan metilasi 5-metilisatin (**10**) dengan KLT



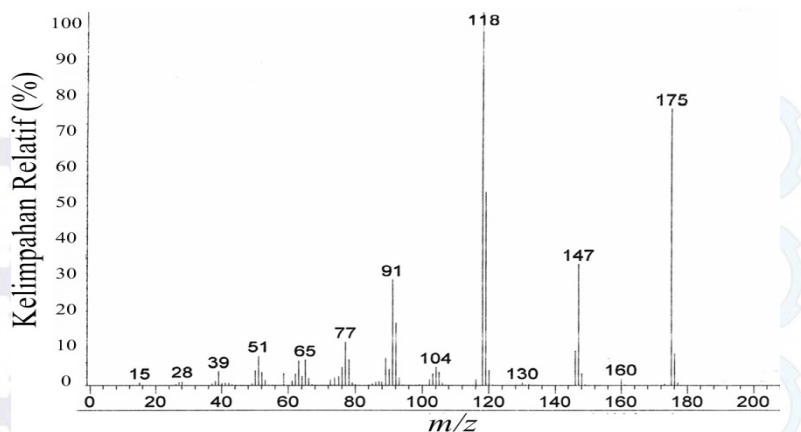
Gambar 4.2 Hasil uji kemurnian padatan hasil metilasi 5-metilisatin (**10**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil metilasi 5-metilisatin (**10**) menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram (Gambar 4.3) yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 9,18 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.4) yang menunjukkan puncak ion molekul pada m/z 175 yang sesuai dengan massa relatif *N*-metil-5-metilisatin (**13a**). Ion molekul selanjutnya berturut-turut melepaskan radikal metil, dua molekul CO dan asam sianida menghasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 160, 132, 104, dan 77. Pelepasan molekul CO dari ion molekul diperoleh kation dengan puncak m/z 147 yang selanjutnya melepaskan radikal $\cdot\text{CHO}$ sehingga terbentuk kation dengan puncak m/z 118. Sedangkan pelepasan berturut-turut molekul HCN dan CO

dihasilkan kation-kation dengan puncak m/z 120 dan 92. Fragmen dengan m/z 92 selanjutnya berturut-turut melepaskan atom hidrogen dan asitelin sehingga diperoleh kation-kation dengan puncak pada m/z 91 dan 65.



Gambar 4.3 Kromatogram *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) hasil sintesis

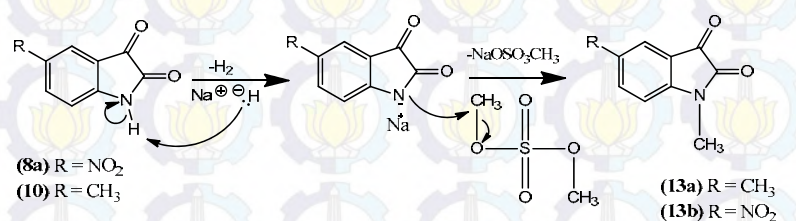


Gambar 4.4 Spektrum massa N-metil-5-metilisatin (**13a**) hasil sintesis

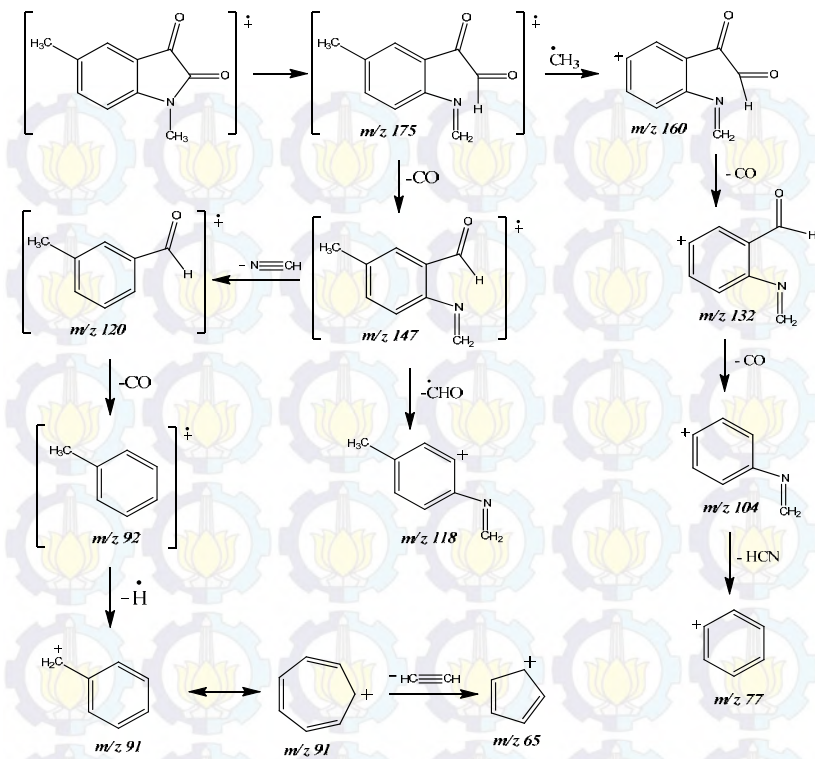
Identifikasi padatan hasil metilasi sebagai *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) diperkuat dengan data hasil pengukuran menggunakan spektrometer NMR dalam pelarut DMSO- d_6 . Spektrum ^1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.7. Spektrum ^1H NMR dengan jelas menunjukkan signal singlet pada pergeseran kimia (δ) 2,69 dan 3,10 ppm yang masing-masing merupakan signal proton-proton gugus metil dan *N*-metil. Proton-proton aromatik memberikan signal doublet pada δ 7,01 ppm, singlet pada δ 7,33 ppm, dan doublet pada δ 7,46 ppm. Spektrum ^{13}C NMR (Gambar 4.8) menunjukkan signal pada δ 20,07 dan 26,00 ppm yang masing-masing merupakan signal karbon metil pada posisi C-5 dan *N*-metil, dua karbon karbonil memberikan signal pada δ 183,65 dan 158,17 ppm, dan karbon-karbon aromatik pada pergeseran kimia 110,39; 117,29; 124,48; 132,56; 138,42; dan 149,21 ppm.

Reaksi 5-metilisatin (**10**) (0,23 gram; 1,4 mmol), natrium hidrida (0,0672 gram ; 2,8 mmol), dan dimetilsulfat (0,13 mL; 1,4 mmol) dalam pelarut DMSO (10 mL) menghasilkan *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) sebagai padatan merah seberat 0,22 gram atau dengan rendemen 88%. Mekanisme metilasi 5-metilisatin (**10**) Sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.5 diawali dengan reaksi

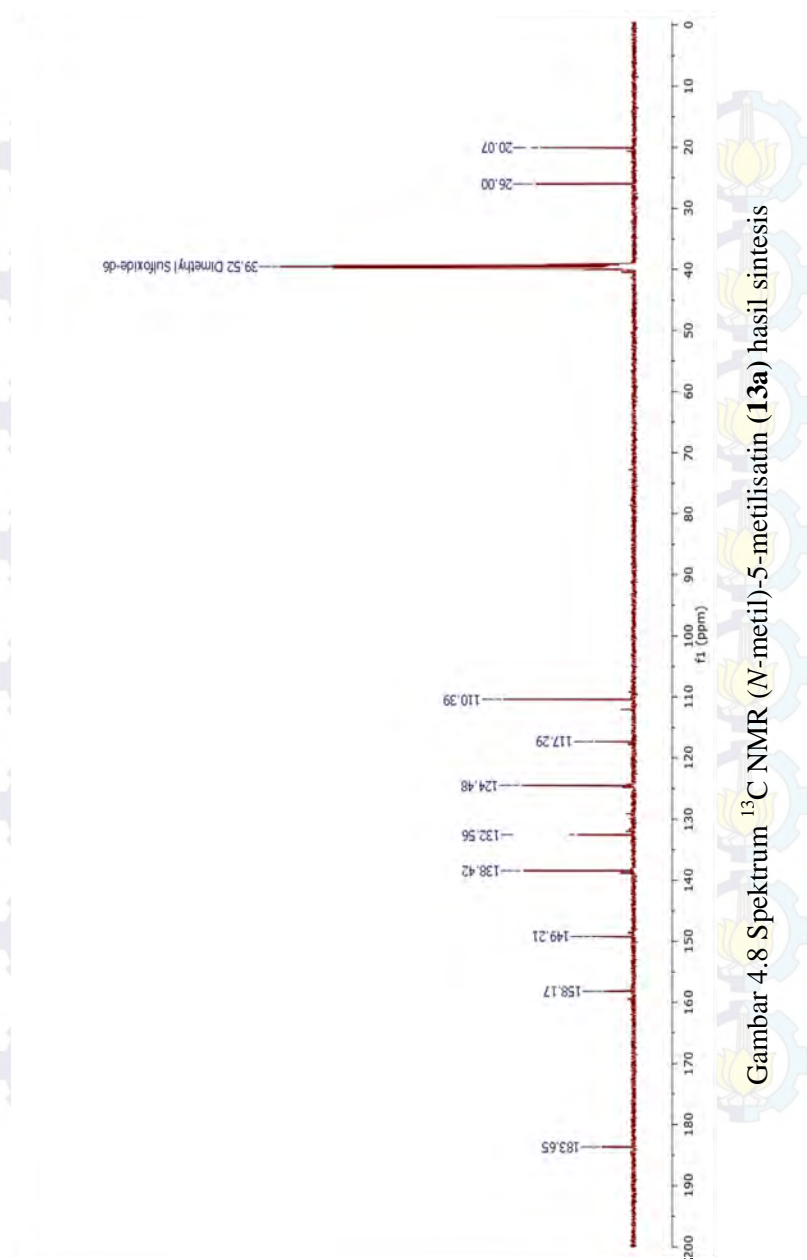
ion hidrida dari natrium hidrida dengan hidrogen dari gugus NH 5-metilisatin (**10**) sehingga diperoleh garam natrium 5-metilisatin dengan hasil samping gas hidrogen. Tahap kedua adalah reaksi garam natrium 5-metilisatin yang bertindak sebagai nukleofil selanjutnya bereaksi dengan gugus metil dari dimetilsulfat yang mengikuti mekanisme reaksi S_N2 menghasilkan *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) dan hasil samping garam natrium metilsulfat.



Gambar 4.5 Mekanisme reaksi pembentukan *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) dan *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**)

Gambar 4.6 Fragmentasi *N*-metil-5-metilisatin (13a)



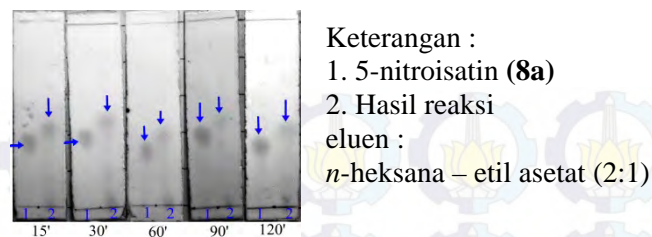


Gambar 4.8 Spektrum ^{13}C NMR (*N*-metil)-5-metilisatin (**13a**) hasil sintesis

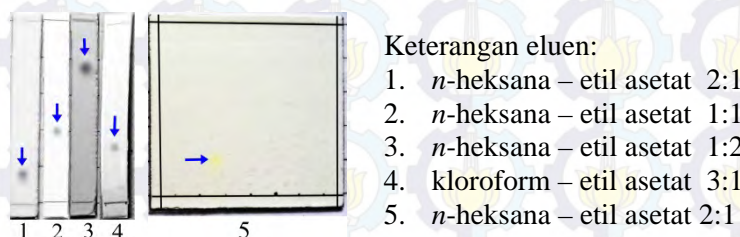
4.2 Metilasi 5-Nitroisatin (**8a**)

Metilasi 5-nitroisatin (**8a**) dengan mengikuti prosedur metilasi 5-metilsatin (**10**), yang dilakukan dalam dua tahap. Reaksi 5-nitroisatin (**8a**) (0,23 gram; 1,2 mmol) dan natrium hidrida (0,057 gram; 2,4 mmol) dalam dimetil sulfoksida anhidrat (10 mL) pada suhu kamar selama 90 menit merupakan tahap pertama. Hasil reaksi pada tahap pertama selanjutnya ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,11 mL; 1,2 mmol), dan diaduk lebih lanjut pada suhu kamar (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi metilasi 5-nitroisatin (**8a**) tahap kedua sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.9 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk dalam waktu reaksi 15 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai Rf yang berbeda dengan nilai Rf 5-nitroisatin (**8a**), tetapi masih terdapat 5-nitroisatin (**8a**) yang belum bereaksi. Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 30-90 menit yang ditandai dengan semakin tebalnya noda hasil reaksi dan menipisnya noda 5-nitroisatin (**8a**). Reaksi berjalan tuntas pada menit 120. Hasil reaksi selanjutnya ditambah aquades dingin (50 mL), dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, diuapkan pelarutnya menggunakan *rotatory evaporator*, dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan merah sebanyak 0,19 gram.

Hasil reaksi metilasi 5-nitroisatin (**8a**) selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT (Gambar 4.10) yang menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni, yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menunjukkan rentang titik leleh sebesar 191-192 °C yang memperkuat hasil uji kemurnian dengan KLT. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C (Juwita, 2008).

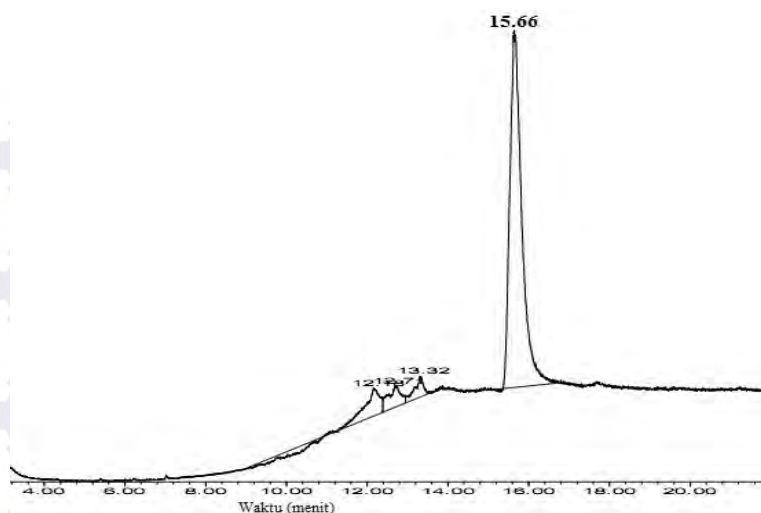


Gambar 4.9 Hasil pemantauan metilasi 5-nitroisatin (**8a**) dengan KLT

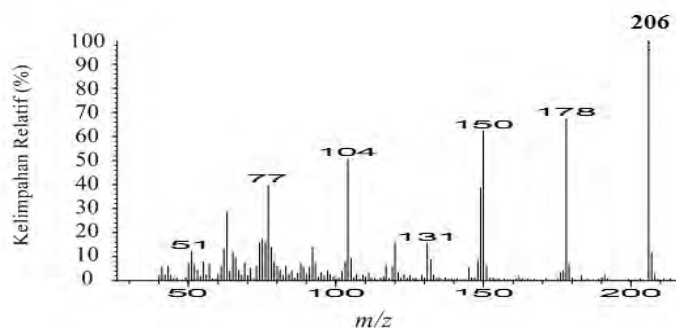


Gambar 4.10 Hasil uji kemurnian padatan hasil metilasi 5-nitroisatin (**8a**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil metilasi 5-nitroisatin (**8a**) menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram (Gambar 4.11) yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 15,66 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.12) yang menunjukkan puncak ion molekul yang sekaligus sebagai puncak dasar pada m/z 206 yang sesuai dengan massa relatif *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**). Pelepasan dua molekul CO dari ion molekul secara berturut-turut diperoleh kation-kation dengan puncak pada m/z 178 dan 150 yang selanjutnya melepaskan berturut-turut molekul NO₂ dan asam sianida sehingga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 104 dan 77. Fragmentasi *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) dapat dilihat pada Gambar 4.5



Gambar 4.11 Kromatogram *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) hasil sintesis



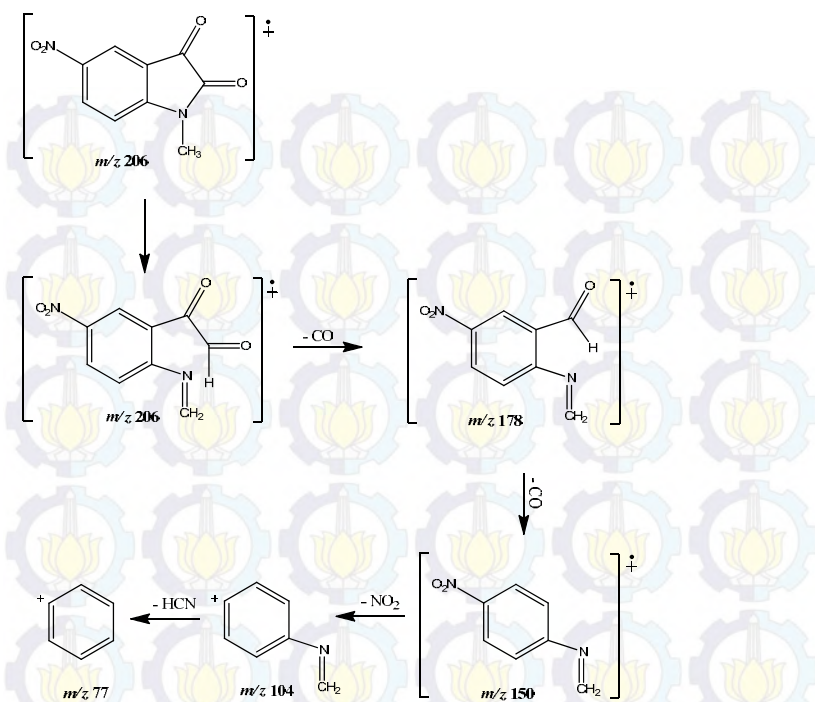
Gambar 4.12 Spektrum massa *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) hasil sintesis

Identifikasi padatan hasil metilasi 5-nitroisatin (**8a**) menggunakan spektrometer NMR dalam pelarut $\text{DMSO-}d_6$ memberikan spektrum ^1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.14 memperkuat hasil metilasi berupa *N*-metil-5-

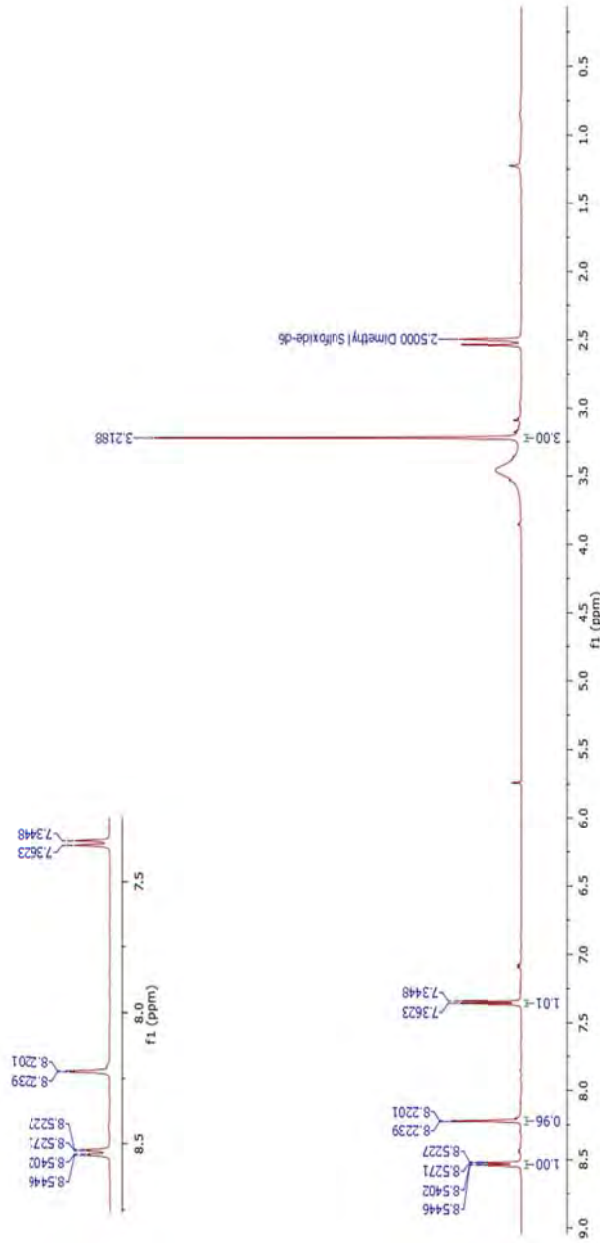
nitroisatin (**13b**). Spektrum ^1H NMR dengan jelas menunjukkan signal singlet pada pergeseran kimia (δ) 3,21 ppm yang merupakan signal proton-proton gugus *N*-metil. Proton-proton aromatik memberikan signal doublet-doublet pada δ 7,35 ppm, doublet pada δ 8,22 ppm, dan doublet-doublet pada δ 8,53 ppm. Spektrum ^{13}C NMR (Gambar 4.15) yang menunjukkan signal pada δ 26,50 ppm yang merupakan signal karbon *N*-metil, dua karbon karbonil memberikan signal pada δ 181,26 dan 158,87 ppm, dan karbon-karbon aromatik pada pergeseran kimia 110,96; 117,79; 118,97; 133,02; 142,94; dan 155,65 ppm.

Reaksi 5-nitroisatin (**8a**) (0,23 gram; 1,2 mmol), natrium hidrida (0,057 gram; 2,4 mmol), dan dimetilsulfat (0,11 mL; 1,2 mmol) dalam pelarut DMSO (10 mL) menghasilkan *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) sebagai padatan merah seberat 0,19 gram atau dengan rendemen 76%. Mekanisme metilasi 5-nitroisatin (**8a**) berlangsung sebagaimana metilasi *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) yang dapat dilihat pada Gambar 4.5.

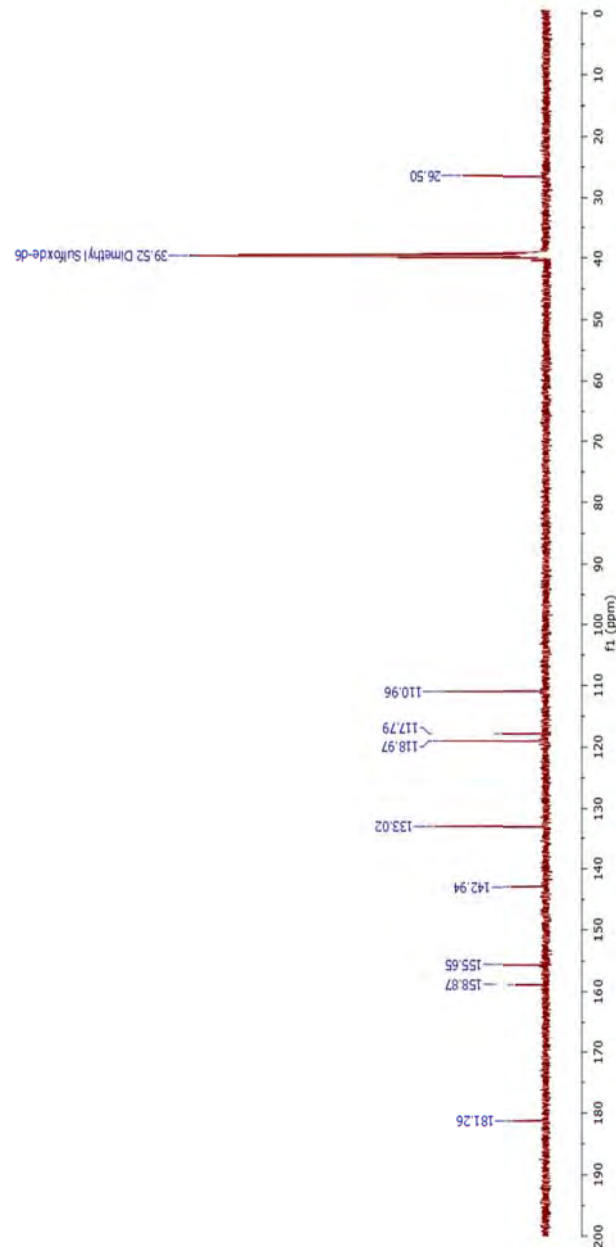




Gambar 4.13 Fragmentasi *N*-metil-5-nitroisatin (13b)



Gambar 4.14 Spektrum ^1H NMR N-metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis



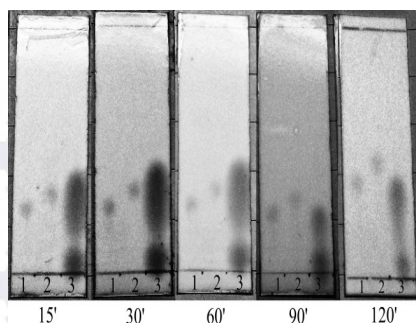
Gambar 4.15 Spektrum ¹³C NMR N-metil-5-nitroisatin (13b) hasil sintesis

4.3 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis isatin-2-tiofenakarbonilhidrazon (**6b**) (Fadlan *et al.*, 2014). Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) dilakukan dengan mereaksikan 5-metilisatin (**10**) (0,13 gram; 0,80 mmol) dalam 20 ml etanol dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam 10 mL etanol ditambah tiga tetes asam sulfat pekat dan direfluks (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.16 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk dalam waktu reaksi 15 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai Rf yang berbeda dengan nilai Rf 5-metilisatin (**10**) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**). Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 30-90 menit yang ditandai dengan semakin tebalnya noda hasil reaksi dan menipisnya noda-noda pereaksi. Reaksi berjalan tuntas pada menit ke-120. Hasil reaksi selanjutnya didinginkan hingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Padatan yang terbentuk dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna oranye sebanyak 0,19 gram.

Uji kemurnian hasil sintesis dengan KLT sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.17 menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni, yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menunjukkan rentang titik leleh sebesar 252-253 °C yang memperkuat hasil sintesis sebagai senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C (Juwita, 2008).



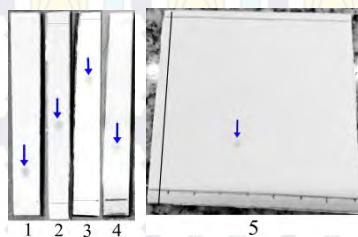


Keterangan :

1. 5-metilisatin (**10**)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-iofenakarboksilat hidrazida (**11**)

eluen : *n*-heksana – etil asetat (2:1)

Gambar 4.16 Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) dengan KLT

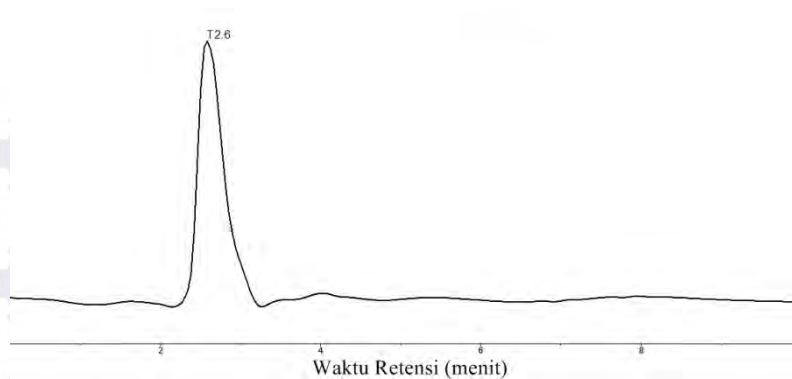


keterangan eluen:

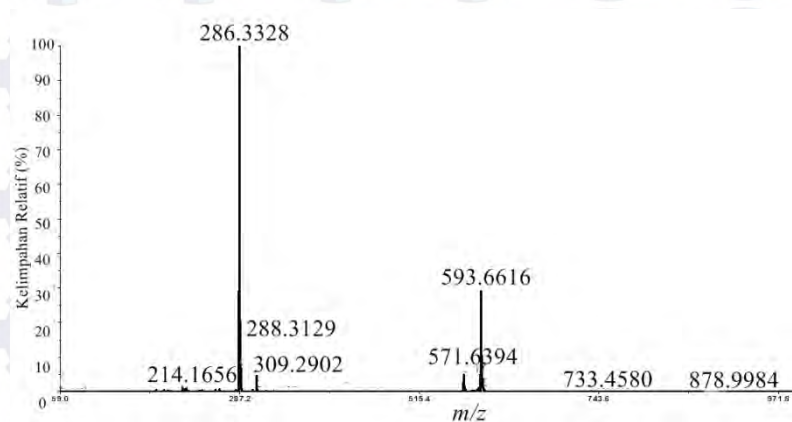
1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

Gambar 4.17 Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil sintesis menggunakan kromatografi cair spektrometer massa (*electro spray*) memberikan kromatogram (Gambar 4.18) yang menunjukkan puncak tunggal dengan waktu retensi pada 2,60 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.19) yang menunjukkan puncak ion molekul yang sekaligus sebagai puncak dasar $[M+H]^+$ pada m/z 286,3328 sesuai untuk 2-tiofenakarboksil hidrazon-5-metilisatin (**9a**), massa ion $[M+H]^+$ hasil perhitungan sebesar 286,3290. Spektrum massa juga menunjukkan puncak ion $[2M+Na]^+$ pada m/z 593,6616 sesuai untuk massa ion $[2M+Na]^+$ hasil perhitungan sebesar 593,6318.



Gambar 4.18 Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisin (**9a**) hasil sintesis



Gambar 4.19 Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisin (**9a**) hasil sintesis

Identifikasi hasil reaksi sebagai 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisin (**9a**) diperkuat dengan data pengukuran spektrometer NMR dalam pelarut DMSO- d_6 . Spektrum ^1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.21. menunjukkan signal proton NH hidrazida dan NH isatin pada δ 11,26 ppm berupa signal melebar, signal proton-proton gugus metil pada δ 2,31 ppm berupa signal

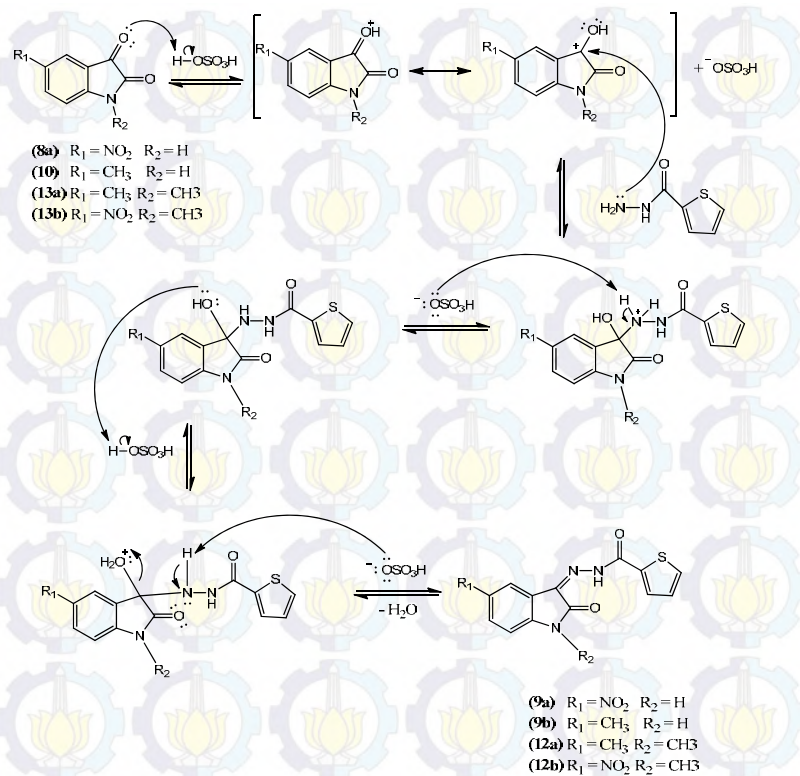
singlet. Proton-proton aromatik pada memberikan signal doublet pada δ 6,84 ppm, doublet pada δ 7,19 ppm, triplet pada δ 7,29 ppm, singlet pada δ 7,43 ppm, dan doublet pada δ 8,04 ppm yang masing-masing mewakili satu proton.

Tabel 4.1 Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (**9a**) dengan hidrazona (**6b**)

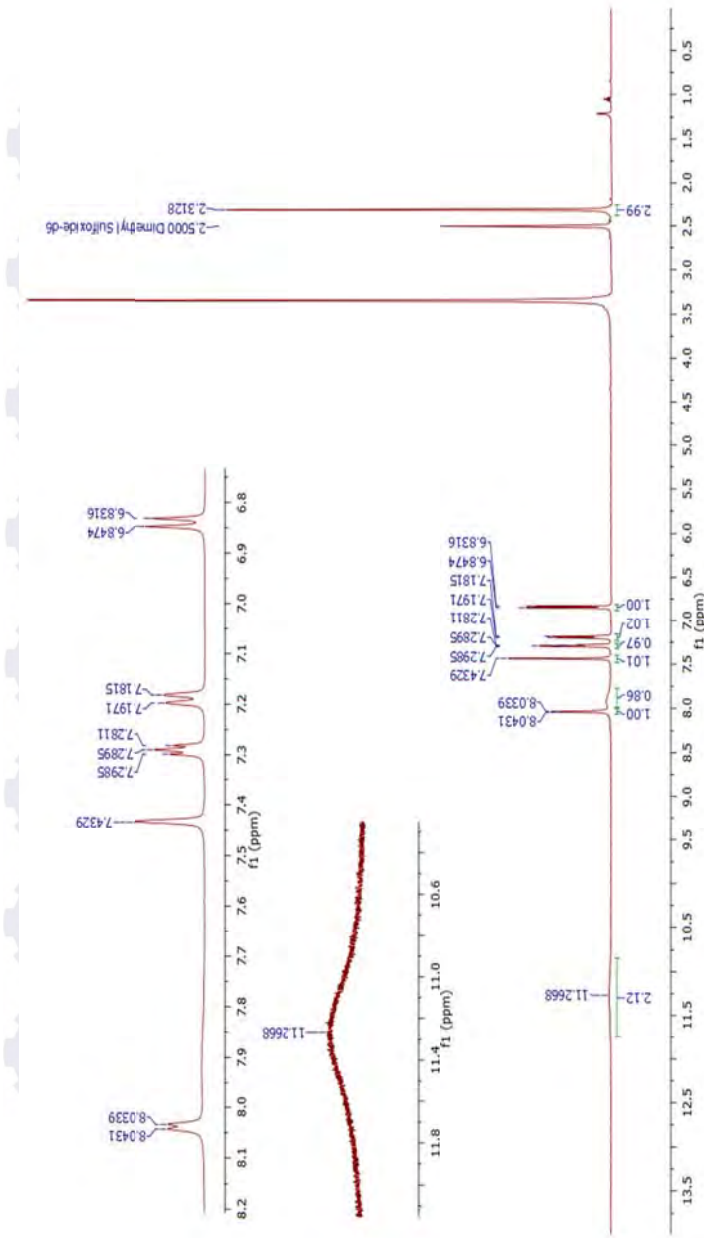
Proton	Hidrazona (9a) (ppm)	Hidrazona (6b) (ppm)
Ar H	6,84 (d, 1H)	6,91 (d, 1H)
	7,19 (d, 1H)	7,06 (t, 1H)
	7,29 (t, 1H)	7,26 (m, 1H)
	7,43 (s, 1H)	8,01 (d, 1H)
	7,92 (s, 1H)	8,07 (d, 1H)
	8,04 (d, 1H)	8,17 (d, 1H)
NH Isatin		10,84 (s, 1H)
NH Hidrazida	11,27 (d, 2H)	11,64 (s, 1H)

Reaksi 5-metilisatin (**10**) (0,13 gram; 0,80 mmol) dengan asam-2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam pelarut etanol menghasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) berupa padatan berwarna oranye dengan berat 0,19 gram atau dengan rendemen 83%. Reaksi antara 5-metilisatin (**10**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) melibatkan reaksi gugus karbonil dengan turunan hidrazin sehingga mekanisme reaksi yang berlangsung mengikuti mekanisme pembentukan hidrazon pada umumnya (Solomon, 2011). Reaksi diawali dengan protonasi oksigen gugus karbonil keton pada posisi C-3 dari 5-metilisatin (**10**) dengan asam sulfat. Asam 2-tiofena karboksilathidrazida (**11**) yang berperan sebagai nukleofil selanjutnya menyerang karbonil yang telah terprotonasi membentuk intermediet tetrahedral. Protonasi gugus hidroksi disertai dengan dehidrasi intermediet berlangsung sehingga diperoleh 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Mekanisme reaksi 5-metilisatin (**10**) dengan asam 2-

tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) disarankan sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.20.



Gambar 4.20 Mekanisme reaksi pembentukan hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-12b**)



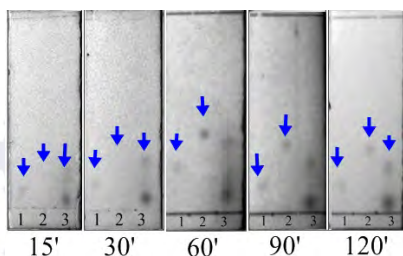
Gambar 4.21 Spketrum ¹H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) hasil sintesis

4.4 Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (9b)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) dilakukan dengan mereaksikan 5-nitroisatin (**8a**) (0,15 gram; 0,80 mmol) dalam 20 ml etanol dengan 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam 10 mL etanol ditambah tiga tetes asam sulfat pekat dan direfluks (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.22 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk dalam waktu reaksi 15 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai Rf yang berbeda dengan nilai Rf 5-nitroisatin (**8a**) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**). Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 30-90 menit yang ditandai dengan semakin tebalnya noda hasil reaksi dan menipisnya noda-noda pereaksi. Reaksi berjalan tuntas pada menit 120. Hasil reaksi selanjutnya didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Padatan yang terbentuk dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), selanjutnya dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna kuning sebanyak 0,23 gram.

Uji kemurnian hasil sintesis dengan KLT sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.23 menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni, yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menunjukkan rentang titik leleh 325-326 °C yang memperkuat bahwa hasil sintesis sebagai senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C (Juwita, 2008).



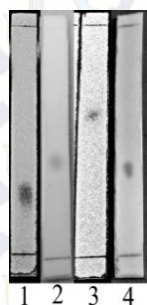


Keterangan :

1. 5-nitroisatin (**8a**)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**)

eluen : *n*-heksana – etil asetat (2:1)

Gambar 4.22 Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) dengan KLT



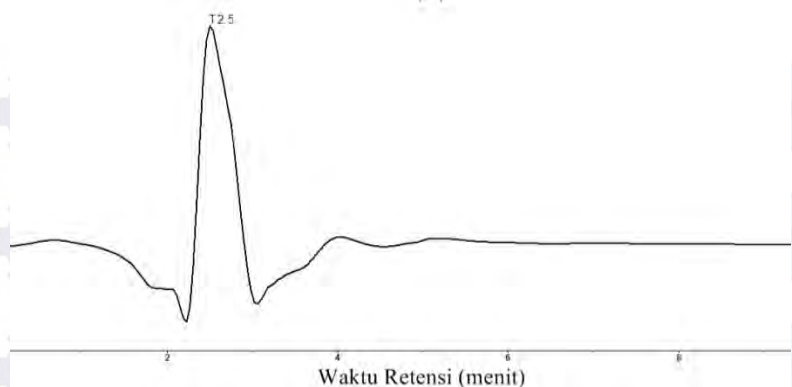
terangan eluen:

- n*-heksana – etil asetat 2:1
- n*-heksana – etil asetat 1:1
- n*-heksana – etil asetat 1:2
- kloroform – etil asetat 3:1
- n*-heksana – etil asetat 2:1

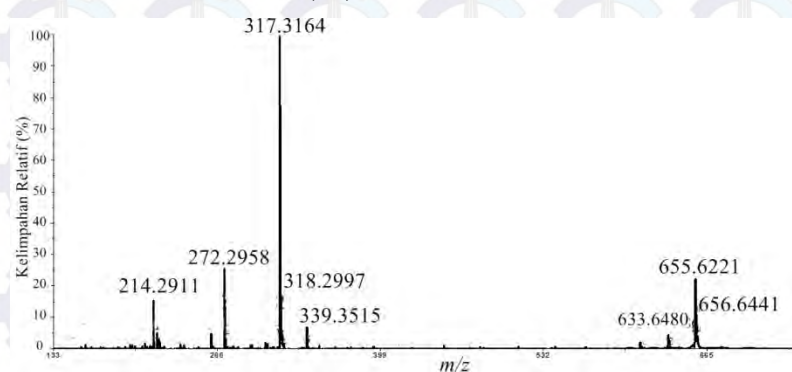
Gambar 4.23 Hasil uji kemurnian padatan hasil 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil sintesis menggunakan kromatografi cair spektrometer massa (*electro spray*) memberikan kromatogram (Gambar 4.24) yang menunjukkan puncak tunggal dengan waktu retensi pada 2,50 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.25) yang menunjukkan puncak ion molekul yang sekaligus sebagai puncak dasar ion $[M+H]^+$ pada m/z 317,3164 untuk 2-tiofenakarboksilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**), massa ion $[M+H]^+$ hasil perhitungan sebesar 317,3000. Spektrum massa juga menunjukkan puncak ion $[M+Na]^+$ pada m/z 339,3615, massa ion

$[M+Na]^+$ hasil perhitungan sebesar 339,2818.



Gambar 4.24 Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) hasil sintesis



Gambar 4.25 Spektrum massa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) hasil sintesis

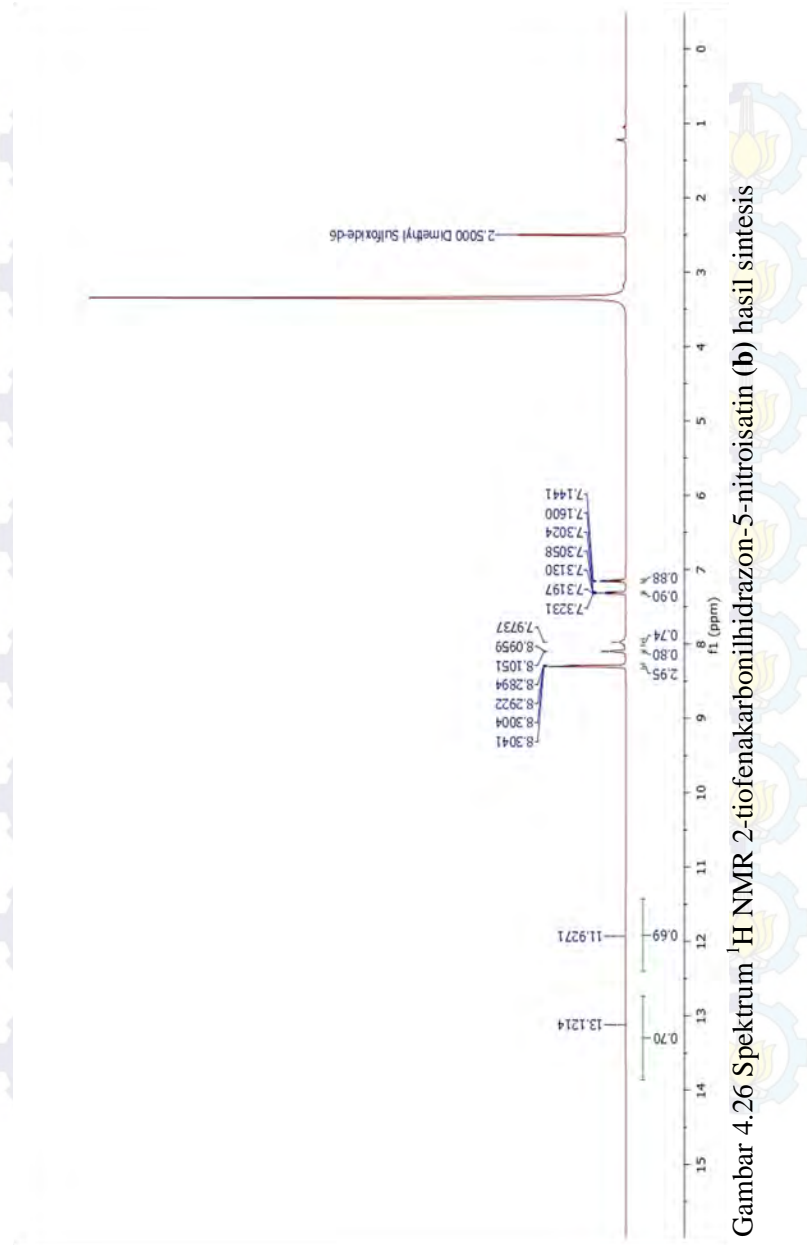
Identifikasi hasil reaksi sebagai 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) diperkuat dengan data identifikasi menggunakan spektrometer NMR (dalam pelarut $DMSO-d_6$). Spektrum 1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.26 menunjukkan signal proton NH hidrazida pada δ 13,12 ppm berupa signal singlet, proton NH isatin pada δ 11,93 ppm berupa signal singlet. Signal-signal proton aromatik masing-masing mewakili satu proton pada δ 7,15 ppm (signal doublet), 7,31 (signal multiplet), δ 7,97 (signal

singlet), 8,10 (signal doublet), δ 8,29 (signal doublet), dan 8,30 ppm (signal doublet). Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (**9b**) dengan hidrazona (**9a**)

Proton	Hidrazona (9b) (ppm)	Hidrazona (9a) (ppm)
Ar H	7,15 (d, 1H)	6,84 (d, 1H)
	7,31 (m, 1H)	7,19 (d, 1H)
	7,97 (s, 1H)	7,29 (t, 1H)
	8,10 (d, 1H)	7,43 (s, 1H)
	8,29 (d, 1H)	7,92 (s, 1H)
	8,30 (d, 1H)	8,04 (d, 1H)
NH Isatin	11,93 (s, 1H)	11,27 (s, 2H)
NH Hidrazida	13,12 (s, 1H)	

Reaksi 5-nitroisatin (**8a**) (0,15 gram; 0,80 mmol) dengan 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam pelarut etanol menghasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) berupa padatan berwarna kuning dengan massa 0,23 gram atau dengan rendemen 92%. Reaksi 5-nitroisatin (**8a**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) melibatkan reaksi adisi nukleofilik gugus karbonil dari 5-nitroisatin (**8a**) dengan turunan hidrazin (**11**) sebagai nukleofilik sehingga mekanisme reaksi yang berlangsung mengikuti mekanisme pembentukan hidrazon pada umumnya (Solomon, 2011). Mekanisme reaksi 5-nitroisatin (**8a**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) disarankan sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.20.

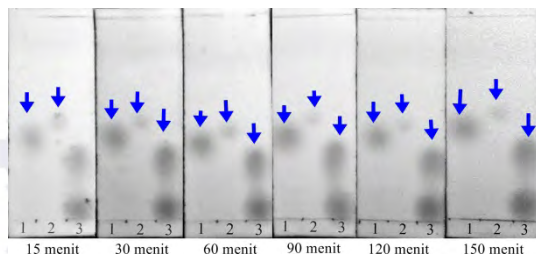


Gambar 4.26 Spektrum ¹H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (b) hasil sintesis

4.5 Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (12a)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (12a) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a). Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (13a) dilakukan dengan merefluks pada suhu 78 °C *N*-metil-5-metilisatin (13a) (0,14 gram; 0,80 mmol) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (11) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol (30 mL) menggunakan katalis asam sulfat (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.27 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk pada menit ke-15 yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai *R_f* yang berbeda dengan *R_f* *N*-metil-5-metilisatin (13a) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (11), tetapi kedua pereaksi belum tuntas bereaksi. Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 30-120 menit yang ditandai dengan noda pereaksi semakin menipis dan menebalnya noda hasil reaksi. Reaksi berjalan tuntas pada menit 150. Hasil reaksi selanjutnya didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, dan pelarutnya diuapkan. Padatan yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna oranye kecoklatan sebanyak 0,14 gram.

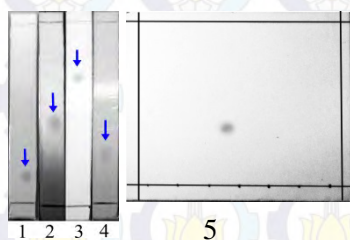
Uji kemurnian hasil sintesis menggunakan KLT sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.28 menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh memberikan rentang titik leleh sebesar 184-185°C yang memperkuat hasil sintesis sebagai senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C (Juwita, 2008).



Keterangan :

1. *N*-metil-5-metilisatin (**13a**)
 2. Hasil reaksi
 3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**)
- eluen : *n*-heksana – etil asetat (2:1)

Gambar 4.27 Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) dengan KLT



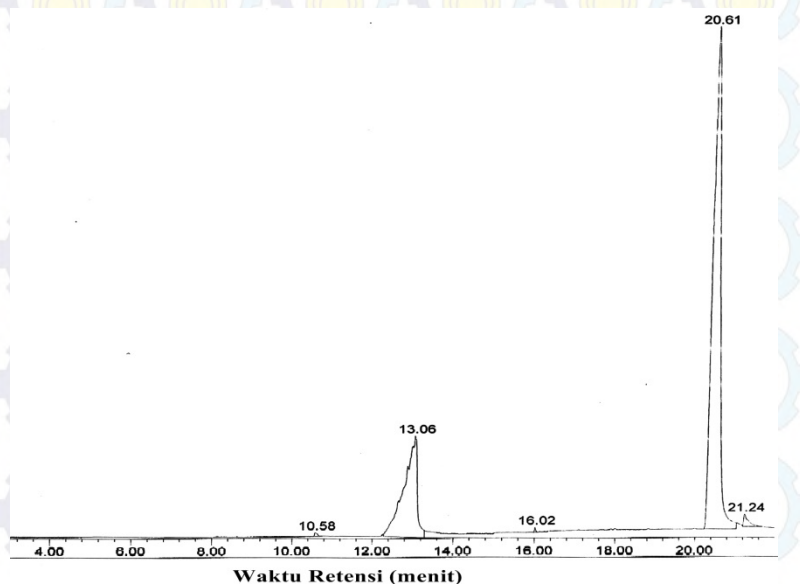
Keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

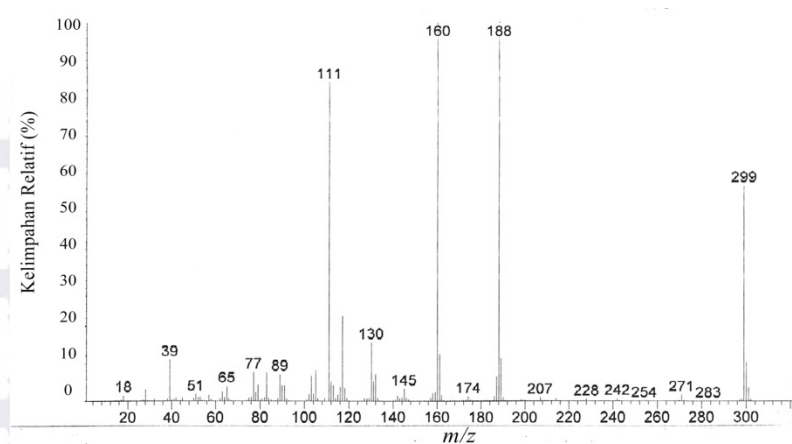
Gambar 4.28 Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil sintesis menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram (Gambar 4.29) yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 20,61 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.30) yang menunjukkan puncak ion molekul yang pada m/z 299 sesuai dengan massa relatif 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**13a**). Ion molekul selanjutnya berturut-turut

melepaskan molekul CO dan radikal $\cdot\text{CHO}$ sehingga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 271 dan 242. Pelepasan radikal-radikal dari ion molekul juga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 188 dan 111. Kation dengan puncak pada m/z 188 berturut-turut melepaskan CO dan N_2 sehingga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 160 dan 132. Kation dengan puncak pada m/z 132 berturut-turut melepaskan asam sianida dan asetilena sehingga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 105 dan 77. Kation dengan m/z 130 terbentuk dari fragmen dengan m/z 132 yang melepaskan hidrogen, sedangkan kation dengan m/z 89 terbentuk dari kation dengan m/z 105 yang melepaskan metana.



Gambar 4.29 Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) hasil sintesis



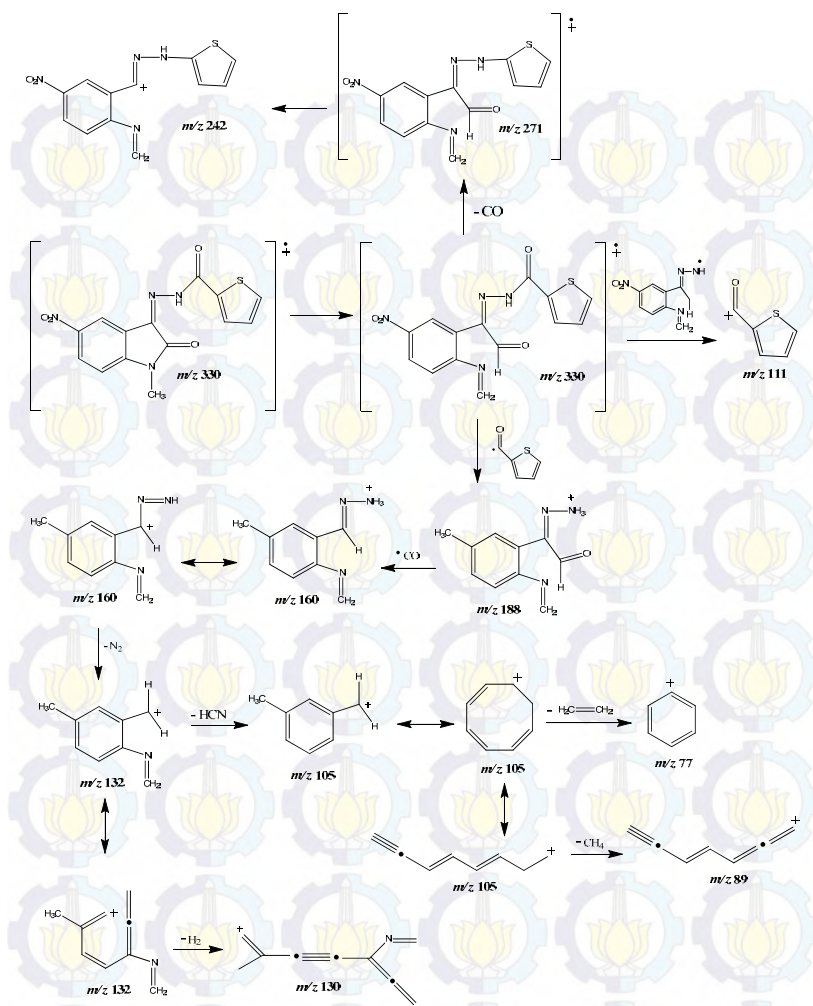
Gambar 4.30 Spektrum massa 2-tiofenakarbonil hidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) hasil sintesis

Identifikasi hasil sintesis sebagai 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**) diperkuat dengan data pengukuran menggunakan spektrometer NMR dalam pelarut DMSO- d_6 . Spektrum ^1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.32 menunjukkan adanya proton-proton gugus metil dan *N*-metil masing-masing pada δ 2,32 dan 3,18 ppm berupa signal singlet. Proton-proton aromatik memberikan signal doublet pada δ 7,02 (1H), doublet pada δ 7,25 (1H), triplet pada δ 7,28 (1H), singlet pada δ 7,43 (1H), singlet pada δ 7,92 (1H), dan doublet pada δ 8,04 (1H). Proton-proton dari NH hidrazida tidak terdapat pada spektrum disebabkan adanya pertukaran proton-proton dengan deuterium dari pelarut DMSO- d_6 (Silverstein, 1998).

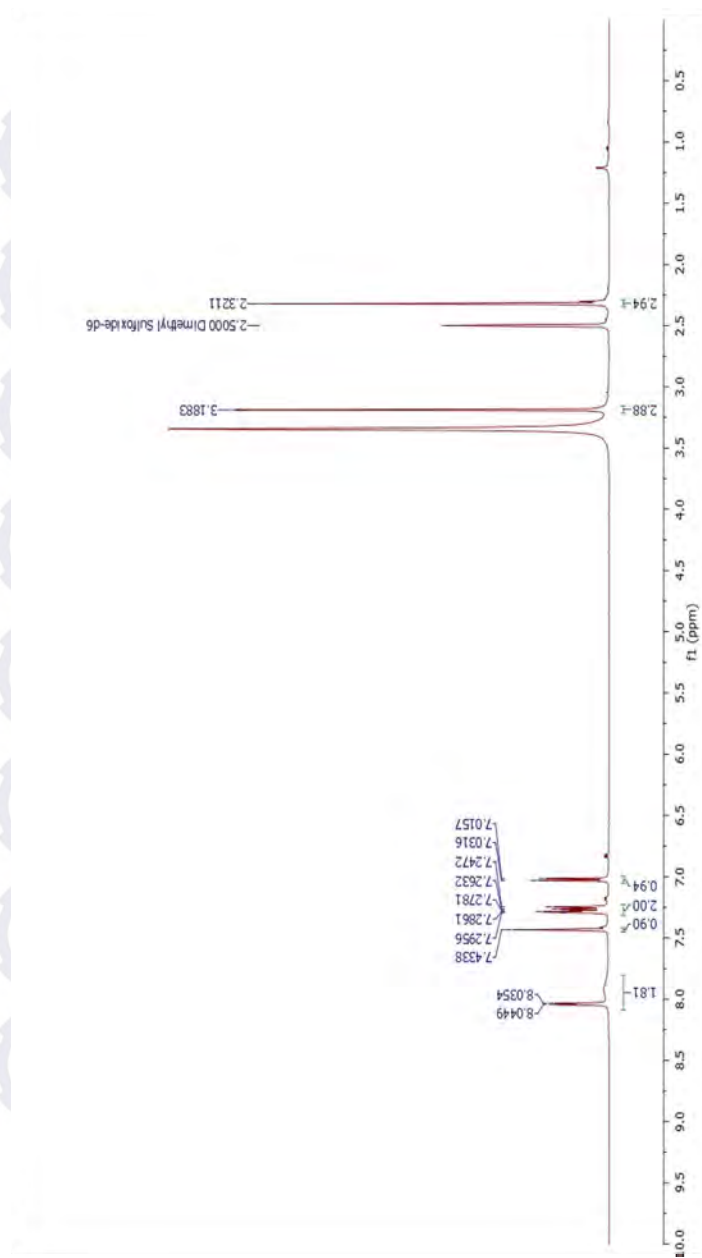
Tabel 4.3 Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (**12a**) dengan hidrazona (**9a**)

Proton	Hidrazona (12a) (ppm)	Hidrazona (9a) (ppm)
Ar H	7,02 (d, 1H)	6,84 (d, 1H)
	7,25 (d, 1H)	7,19 (d, 1H)
	7,28(t, 1H)	7,29 (t, 1H)
	7,43 (s, 1H)	7,43 (s, 1H)
	7,92 (s, 1H)	7,92 (s, 1H)
	8,04 (d, 1H)	8,04 (d, 1H)
<i>N</i> -CH ₃	3,18 (s, 3H)	-
NH Hidrazida	-	11,27 (d, 2H)
NH Isatin	-	

Reaksi *N*-metil-5-metilisin (**13a**) (0,14 gram; 0,80 mmol) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol dengan katalis asam sulfat menghasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisin (**12a**) berupa padatan warna oranye kecoklatan dengan massa 0,14 gram atau dengan rendemen 58%. Mekanisme reaksi *N*-metil-5-metilisin (**13a**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) disarankan sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.20.



Gambar 4.31 Fragmentasi 2-tiofenakarbonilhidrazon-(N-metil)-5-metilisatin (**12a**)

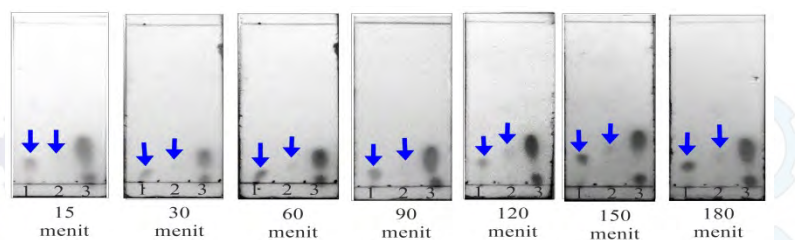


Gambar 4.32 Spektrum ^1H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilsatin (**12a**) hasil sintesis

4.6 Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (12b)

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**). Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dilakukan dengan merefluks *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) (0,10 gram; 0,50 mmol;) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,07 gram; 0,50 mmol) dalam 30 mL etanol pada suhu 78 °C menggunakan katalis asam sulfat (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil pemantauan reaksi sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.33 menunjukkan bahwa hasil reaksi telah terbentuk pada saat reaksi berjalan 15 menit yang ditandai dengan adanya noda dengan nilai R_f yang berbeda dengan nilai R_f *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**). Hasil reaksi semakin meningkat dalam waktu reaksi 30-150 menit yang ditandai dengan R_f yang berbeda dari noda pereaksi. Reaksi berjalan tuntas pada menit ke-180, hasil reaksi didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, dan pelarut selanjutnya diuapkan. Padatan yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna coklat sebanyak 0,14 gram.

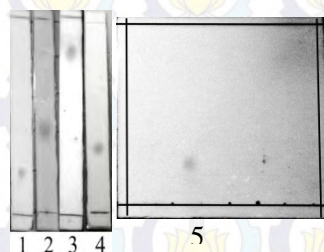
Uji kemurnian hasil sintesis menggunakan KLT sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.34 menunjukkan bahwa padatan hasil sintesis merupakan senyawa murni yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh yang memberikan rentang titik leleh sebesar 211-212 °C yang memperkuat hasil sintesis sebagai senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C (Juwita, 2008).



Keterangan :

1. *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**)

Gambar 4.33 Hasil pemantauan sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dengan KLT



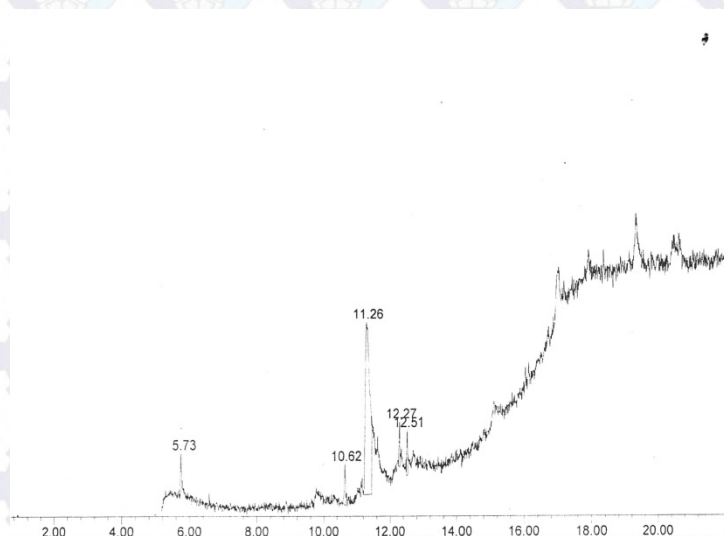
keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

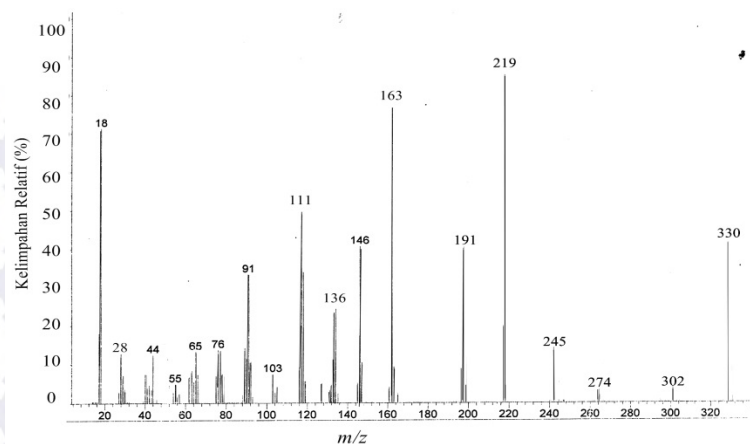
Gambar 4.34 Hasil uji kemurnian padatan hasil sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) dengan KLT

Identifikasi padatan hasil sintesis menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram (Gambar 4.35) yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 11,26 menit dengan spektrum massa (Gambar 4.36) yang menunjukkan puncak ion molekul yang sekaligus sebagai puncak ion molekul pada m/z 330 sesuai untuk 2-tiofenakarbonilhidrazon-*N*-metil-5-nitroisatin (**12b**). Pelepasan

dua molekul CO dari ion molekul diperoleh kation-kation dengan puncak pada m/z 302 dan 274, yang selanjutnya melepaskan molekul $\text{HN}=\text{CH}_2$ menghasilkan kation dengan puncak pada m/z 245. Ion molekul juga melepaskan radikal sehingga terbentuk fragmen-fragmen dengan puncak-puncak pada m/z 111 dan 219. Molekul-molekul CO, N_2 dan HCN secara berturut-turut dilepaskan kation dengan puncak pada m/z 219 sehingga dihasilkan kation-kation dengan puncak pada m/z 191, 163 dan 136.



Gambar 4.35 Kromatogram 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) hasil sintesis



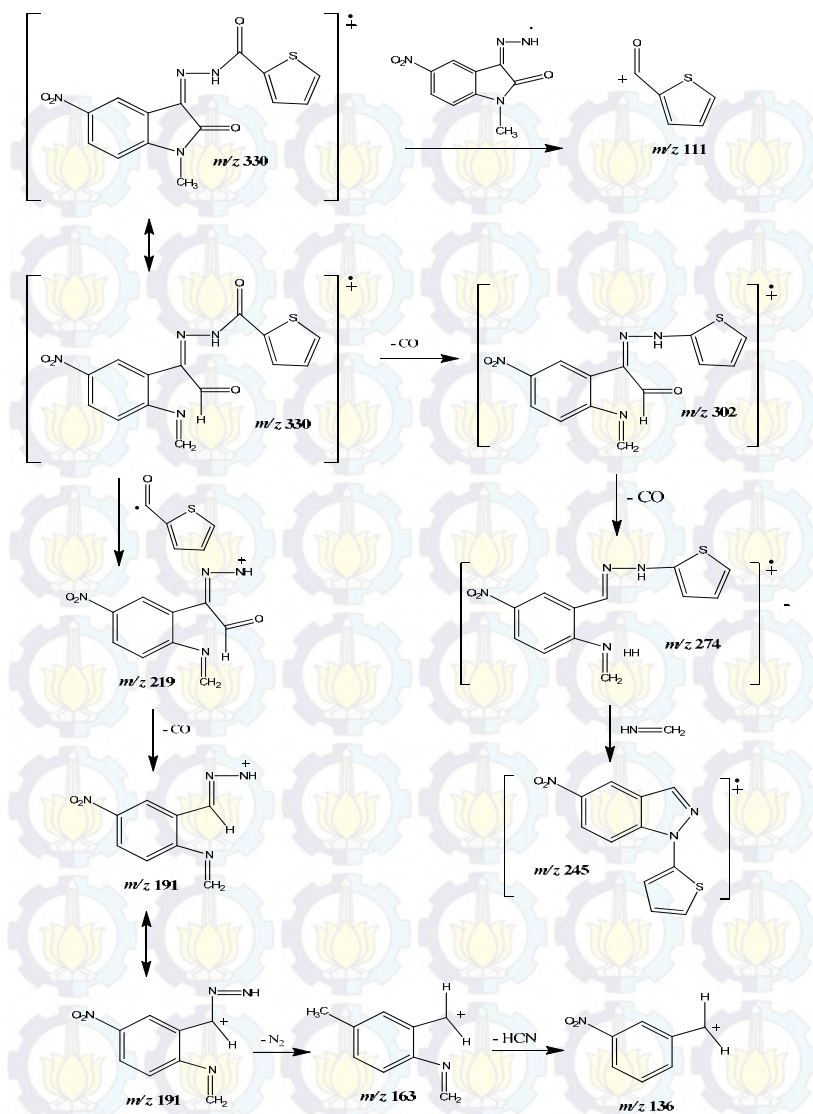
Gambar 4.36 Spektrum massa 2-tiofenakarbonil hidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) hasil sintesis

Identifikasi padatan hasil sintesis sebagai 2-tiofenakarbonil hidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) diperkuat dengan data analisa NMR dalam pelarut DMSO- d_6 . Spektrum ^1H NMR sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.38 menunjukkan signal pada δ 1,23 ppm yang merupakan signal proton-proton *N*-metil, proton-proton aromatik memberikan signal-signal doublet pada pergeseran 7,33 (1H), triplet pada δ 7,42 (1H), singlet pada δ 8,00 (1H), doublet pada δ 8,12 (1H), doublet pada δ 8,32 (1H), dan doublet pada δ 8,41 (1H). Proton NH memberikan signal singlet melebar pada pergeseran kimia 13,12 ppm.

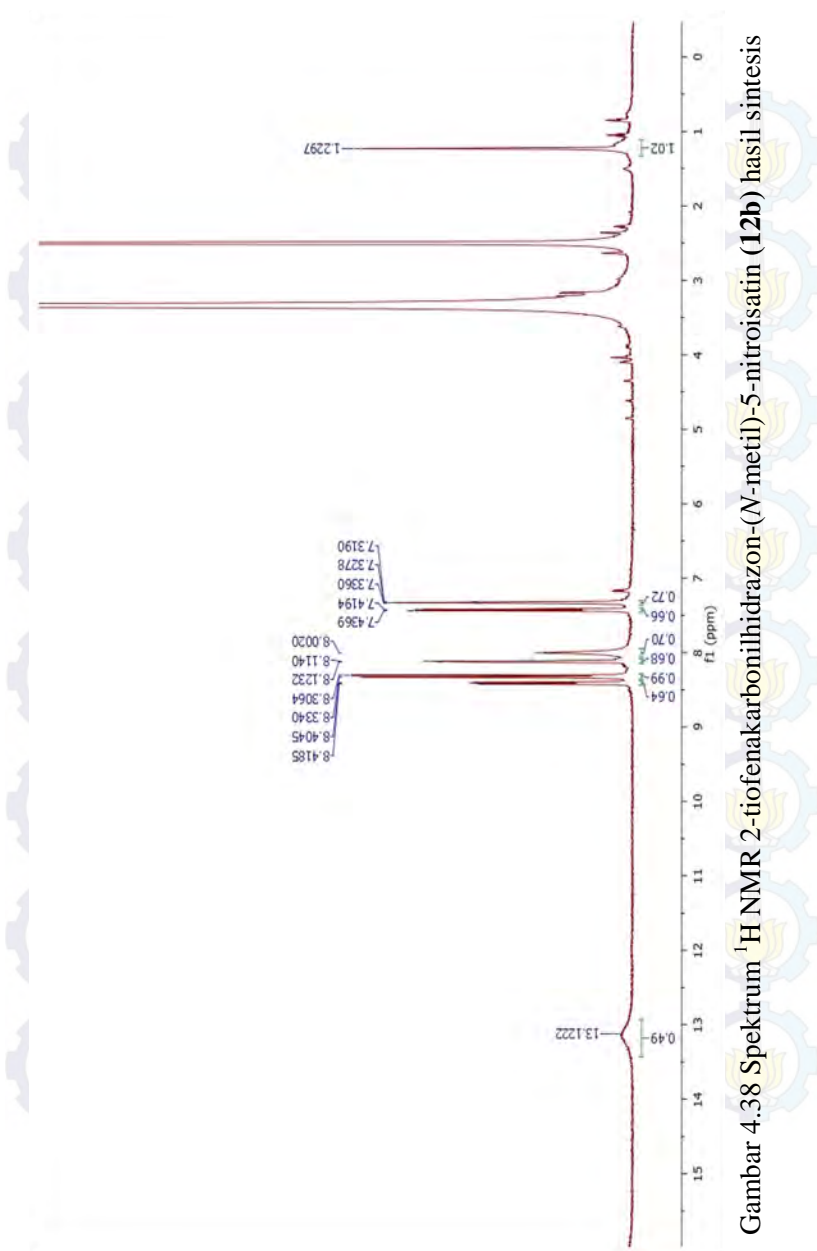
Reaksi antara *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) (0,10 gram; 0,50 mmol) dengan asam-2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,07 gram; 0,50 mmol) dalam pelarut etanol dengan katalis asam sulfat dihasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) sebagai padatan warna coklat dengan berat 0,14 gram atau dengan rendemen 82%. Mekanisme reaksi antara *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) disarankan sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 4.20.

Tabel 4.4 Perbandingan data ^1H NMR hidrazona hasil sintesis (**12b**) dengan hidrazona (**9b**), (**9a**), dan (**12a**) (dalam ppm)

Proton	Hidrazona (12b)	Hidrazona (9b)	Hidrazona (12a)	Hidrazona (9a)
Ar H	7,33 (t, 1H)	7,15 (d, 1H)	7,02 (d, 1H)	6,84 (d, 1H)
	7,42 (d, 1H)	7,31 (m, 1H)	7,25 (d, 1H)	7,19 (d, 1H)
	8,00 (s, 1H)	7,97 (s, 1H)	7,28(t, 1H)	7,29 (t, 1H)
	8,12 (d, 1H)	8,10 (d, 1H)	7,43 (s, 1H)	7,43 (s, 1H)
	8,32 (d, 1H)	8,29 (d, 1H)	7,92 (s, 1H)	7,92 (s, 1H)
N-CH ₃	8,41 (d, 1H)	8,30 (d, 1H)	8,04 (d, 1H)	8,04 (d, 1H)
	1,23 (s, 3H)	-	3,18 (s, 3H)	-
NH Hidrazida	13,12 (s, 1H)	13,12 (s, 1H)	-	11,27 (d, 2H)
NH Isatin	-	10,84 (s, 1H)	-	-



Gambar 4.37 Fragmentasi 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (12b)



Gambar 4.38 Spektrum ^1H NMR 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) hasil sintesis

BAB V

KESIMPULAN

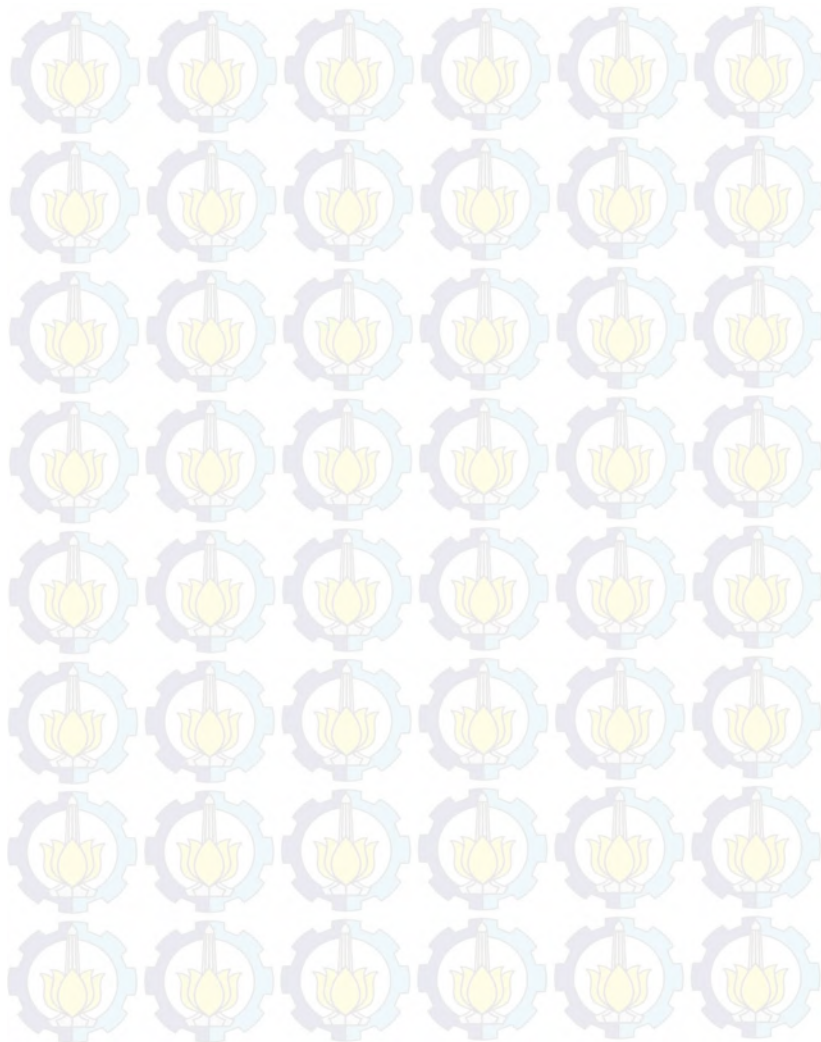
5.1 Kesimpulan

Metilasi 5-metilisatin (**10**) dan 5-nitroisatin (**8a**) masing-masing selama 210 dan 120 menit diperoleh *N*-metil-5-metilisatin (**13a**) dan *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) dengan rendemen masing-masing sebesar 88% dan 76%. Hidrazona baru berupa 2-tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**), 2-tiofena karbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**), 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**), dan 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**) masing-masing berhasil disintesis dari reaksi 5-metilisatin (**10**), 5-nitroisatin (**8a**), *N*-metil-5-metilisatin (**13a**), dan *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) dengan asam 2-tiofenakarboksil hidrazida (**11**) menggunakan katalis asam sulfat. Sintesis hidrazon (**9a**) dan (**9b**) membutuhkan waktu 120 menit dengan rendemen masing-masing sebesar 83% dan 92%, sedangkan sintesis hidrazona (**12a**) dan (**12b**) masing-masing membutuhkan waktu selama 150 dan 180 menit dengan rendemen masing-masing sebesar 58% dan 82%.

5.2 Saran

Penelitian lanjutan untuk mengkaji bioaktivitas hidrazona (**9a-b**) dan (**12a-b**).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



SINTESIS EMPAT HIDRAZONA DARI 5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN

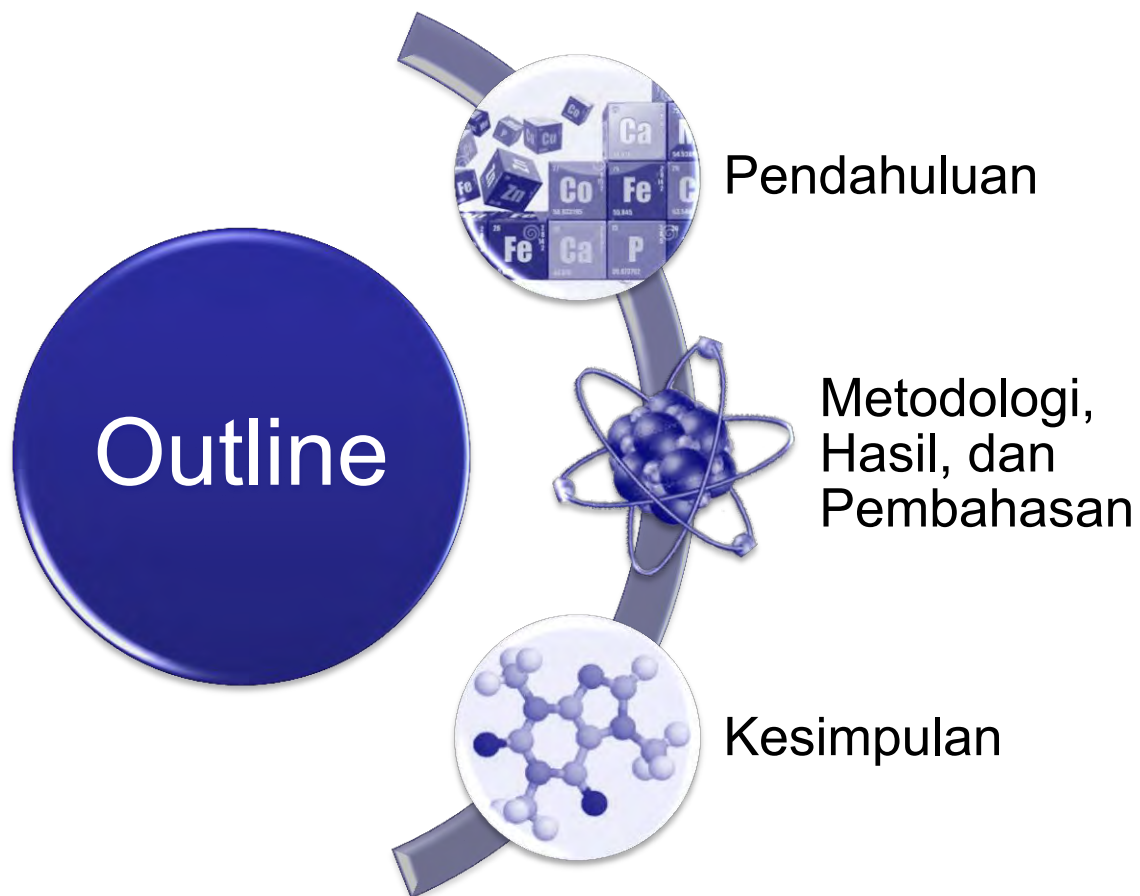


M. Riza Ghulam Fahmi (1411 100 127)

Supervisor :

Prof. Mardi Santoso, Ph.D.



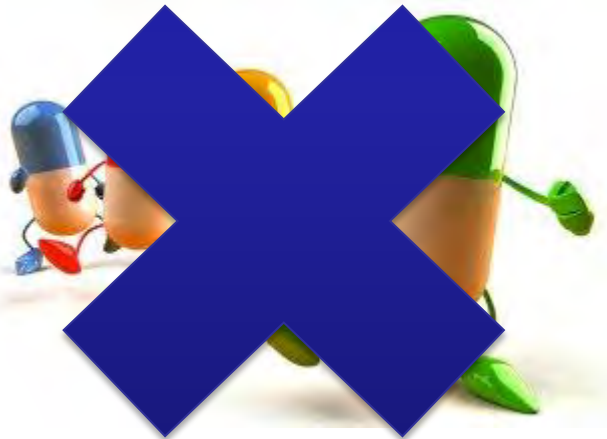
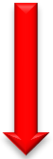




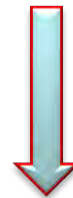
LATAR BELAKANG



Illustration: Don Smith

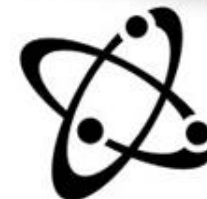
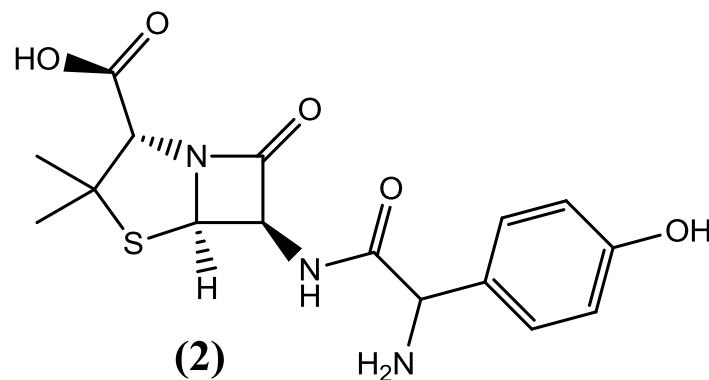
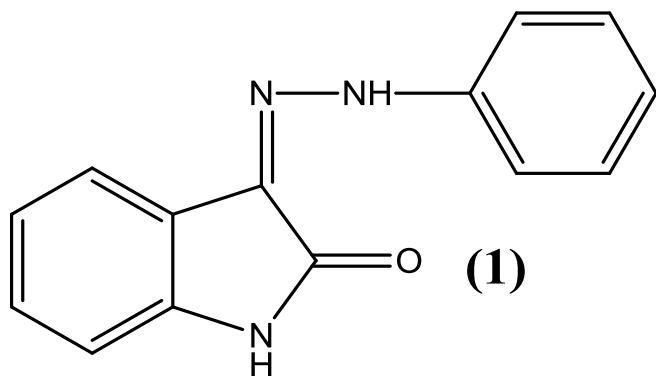


Antibiotik



Alternatif
Baru

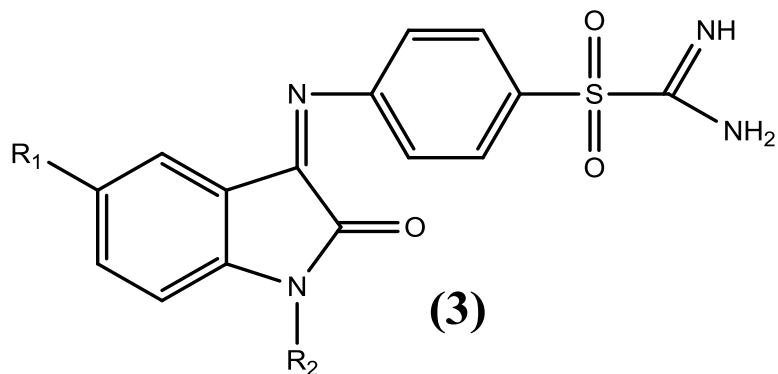
Turunan isatin
berupa hidrazona



Bakteri	Hidrazona (1)	Amoksilin (2)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 95	100	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2853	240	1020
<i>Proteus vulgaris</i>	200	500
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	160	-

Data bioaktivitas (MIC dalam $\mu\text{g}/\text{cm}^{-3}$)

Pengaruh Gugus Metil, Nitro, dan *N*-metil pada Hidrazona



(3a) $R_1 = H$ $R_2 = H$

(3b) $R_1 = NO_2$ $R_2 = H$

(3c) $R_1 = CH_3$ $R_2 = H$

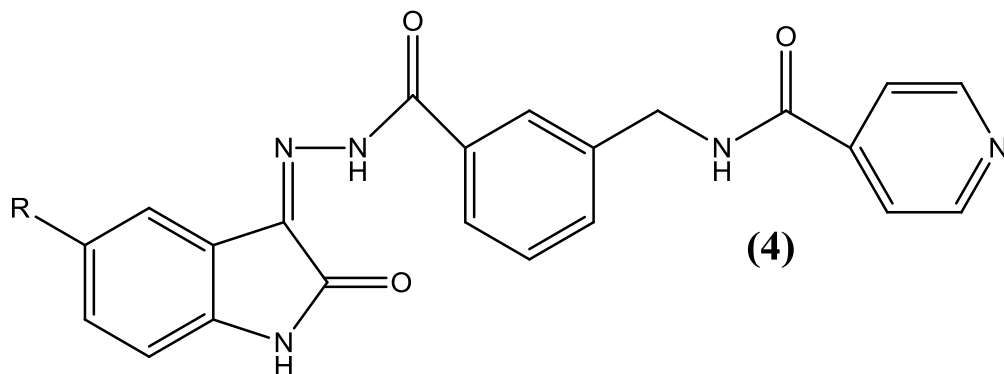
(3d) $R_1 = H$ $R_2 = CH_3$

(3e) $R_1 = H$ $R_2 = H_2C-N$

Senyawa	*MIC (mg/mL)
(3a)	300
(3b)	275
(3c)	250
(3d)	275
(3e)	350

*Terhadap *Staphylococcus aureus*

Pengaruh Gugus Metil dan Nitro pada Hidrazona



(4a) R = CH₃

(4b) R = Br

(4c) R = Cl

(4d) R = NO₂

Hidrazona	*Efektivitas Zona Hambat
(4a)	++
(4b)	-
(4c)	+
(4d)	++

Keterangan :

*Terhadap bakteri *Escherichia coli*

+++ : Sangat efektif

++ : Sedang efektif

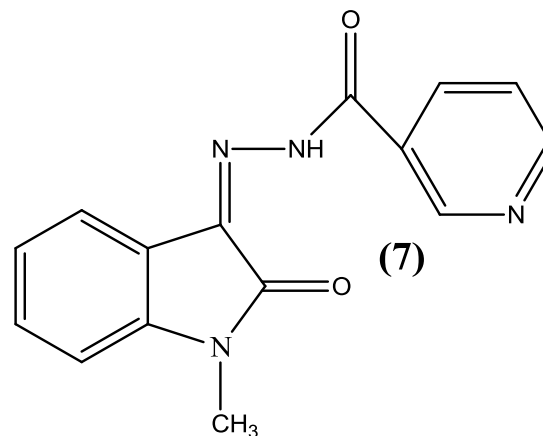
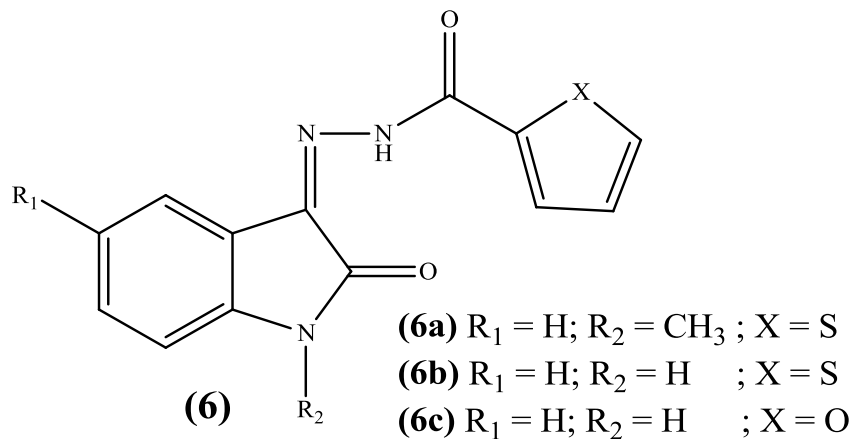
+

: Kurang efektif

-

: Tidak efektif

Pengaruh Gugus Teofenil dan *N*-metil pada Hidrazona



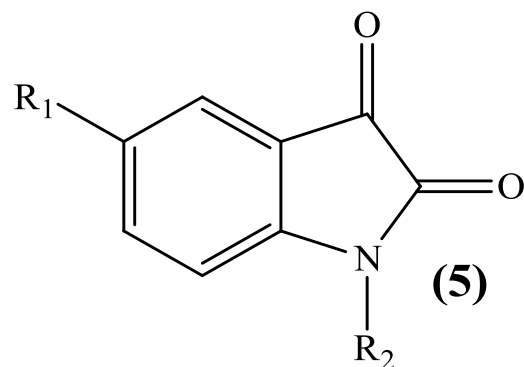
Senyawa	* MIC (dalam $\mu\text{g/mL}$)
(6a)	6
(7)	>200
(6b)	100
(6c)	>200

*Terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Rodríguez-Argüelles dkk. (2007) *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101; 138-147.

Rodríguez-Argüelles dkk. (2009) *Polyhedron*, 28; 2187-2195.

Pengaruh Gugus Nitro dan *N*-metil pada Hidrazona



(5a) $R_1 = H$ $R_2 = H$

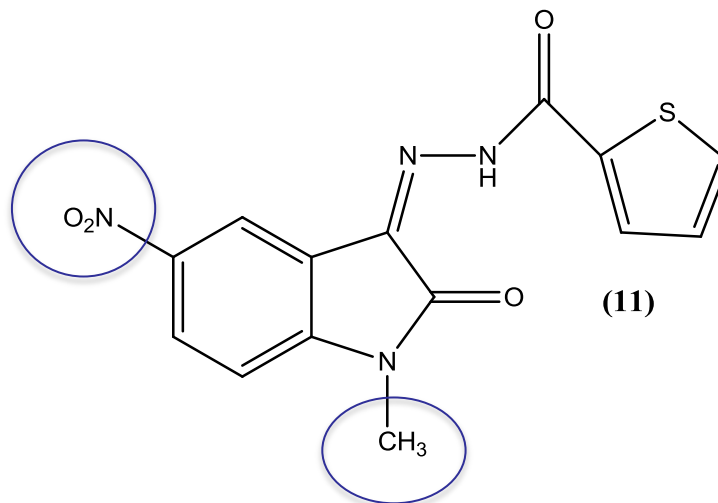
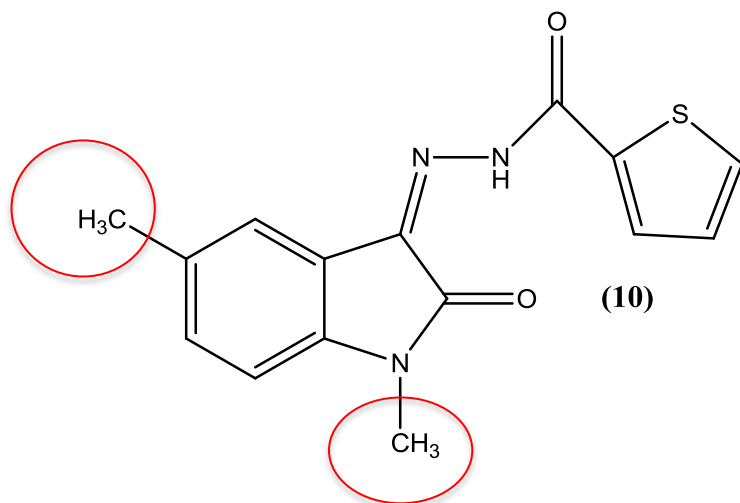
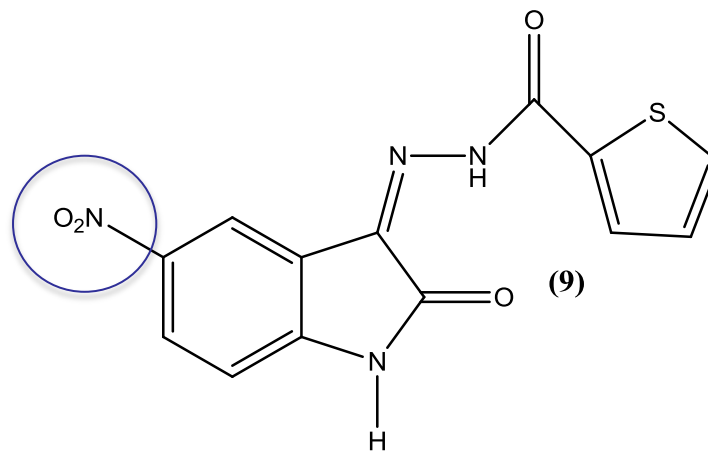
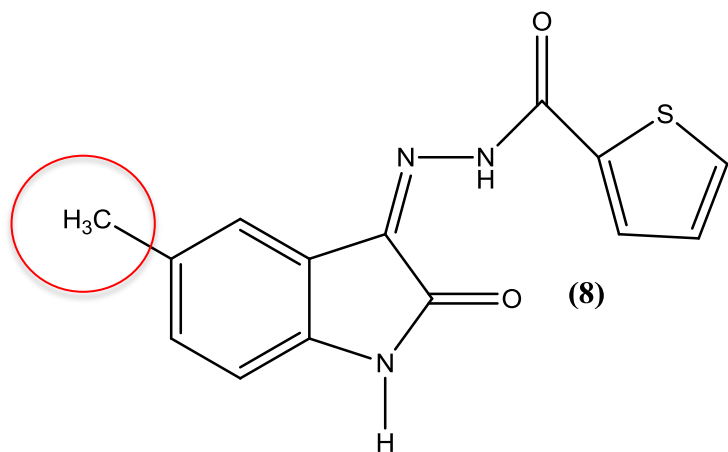
(5b) $R_1 = NO_2$ $R_2 = H$

(5c) $R_1 = OCH_3$ $R_2 = H$

(5d) $R_1 = H$ $R_2 = CH_3$

Senyawa	*IC ₅₀ (μM)
(5a)	565
(5b)	132
(5c)	420
(5d)	238

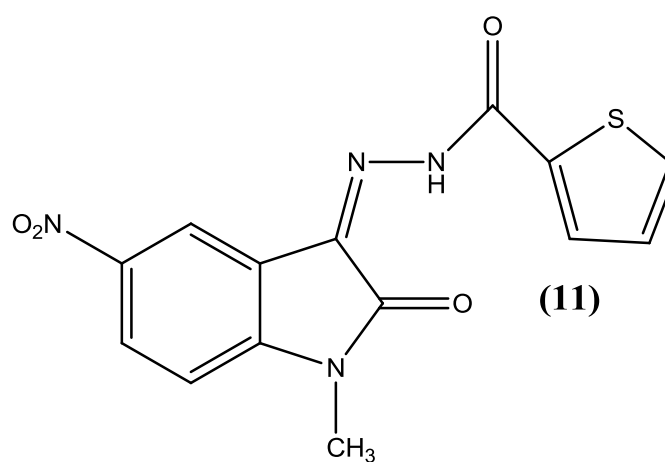
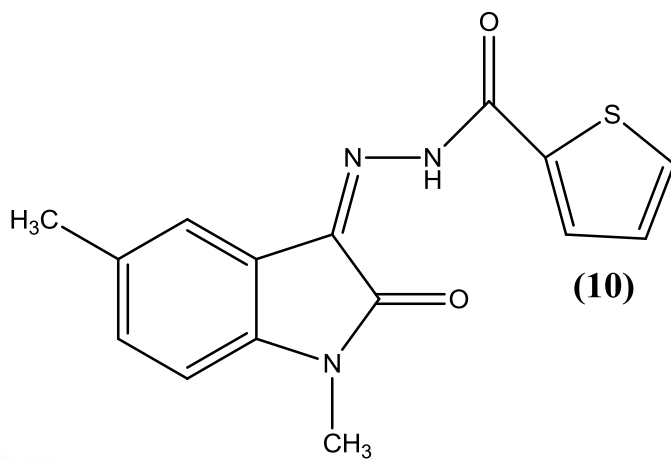
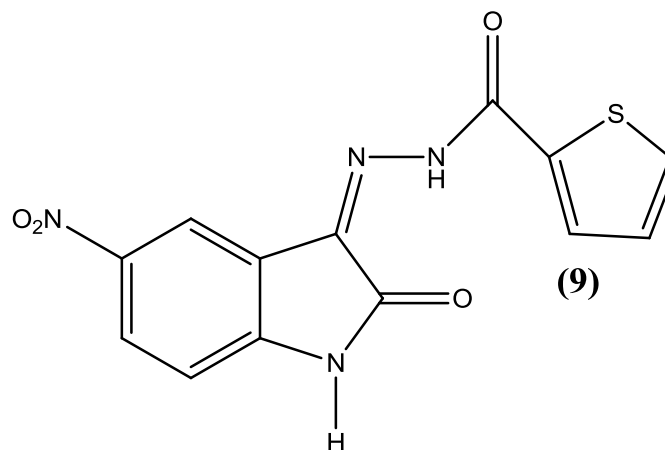
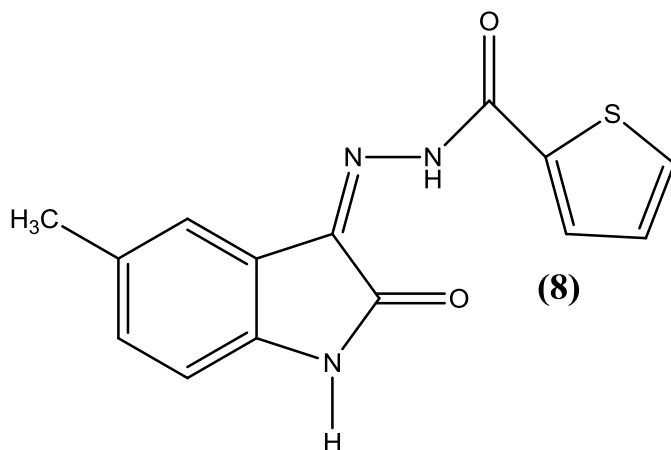
*Terhadap sel kanker leukemia U937

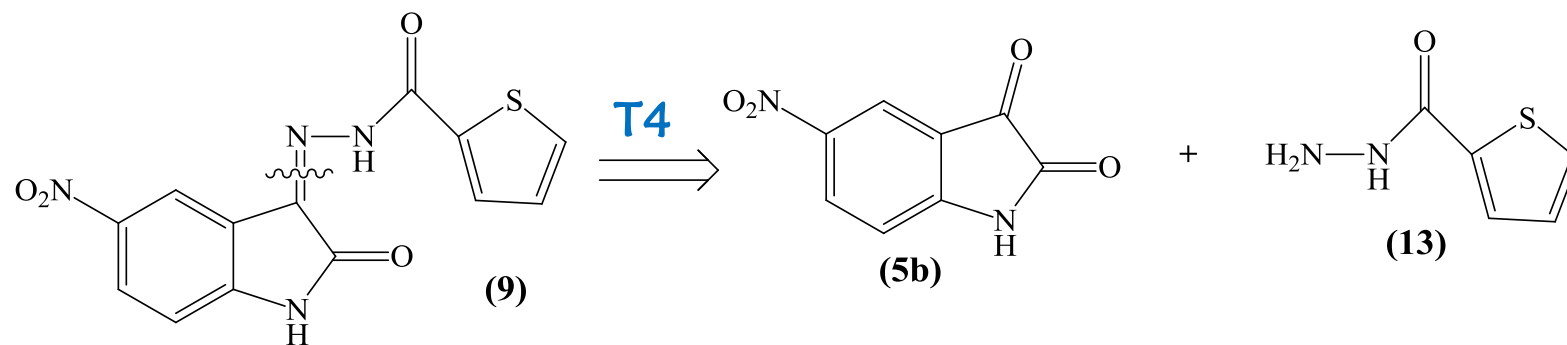
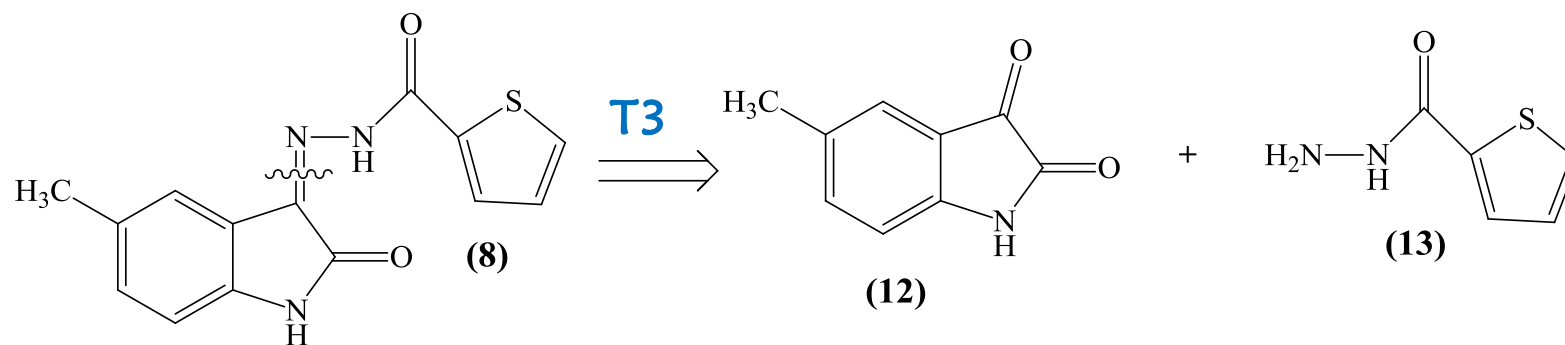


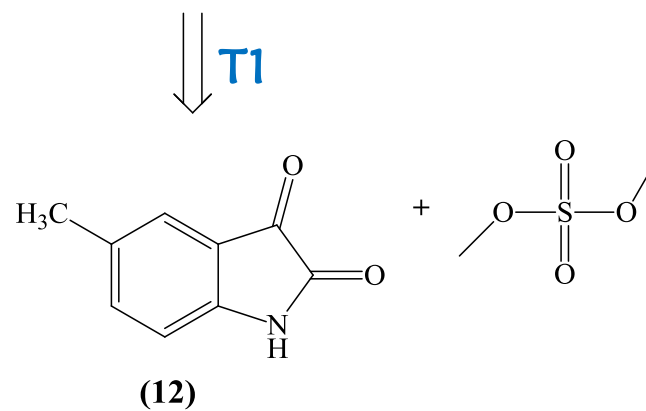
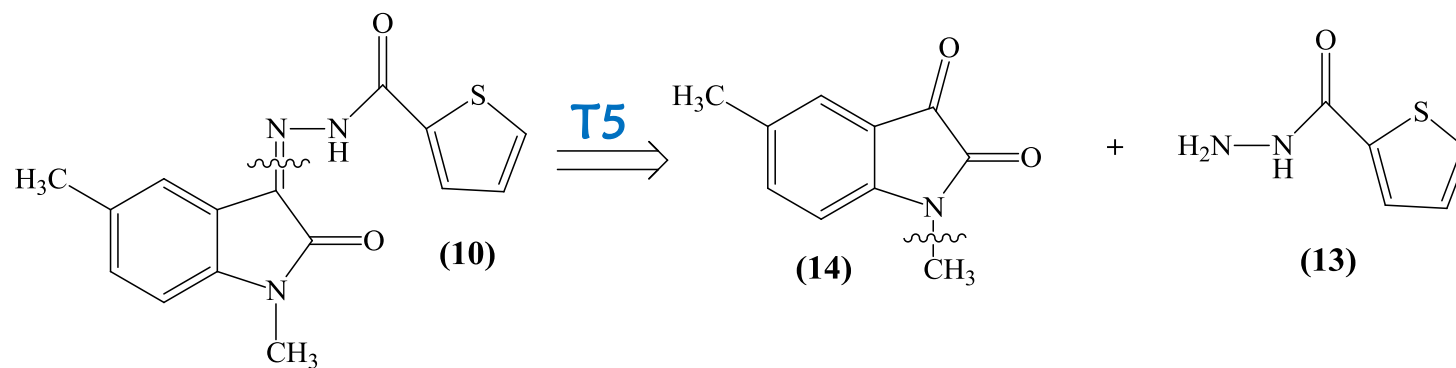
PERMASALAHAN

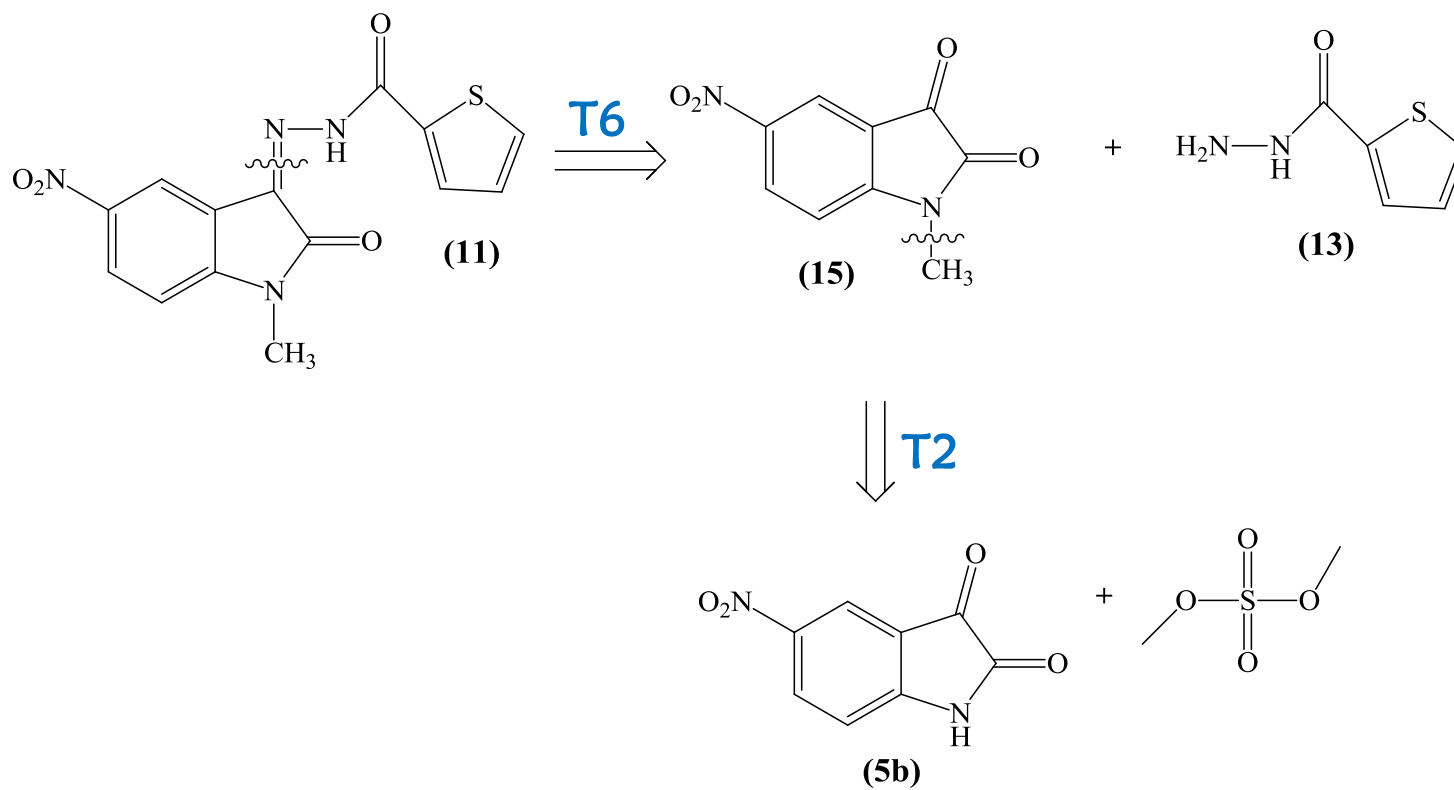


Bagaimana mensintesis empat hidrazona :





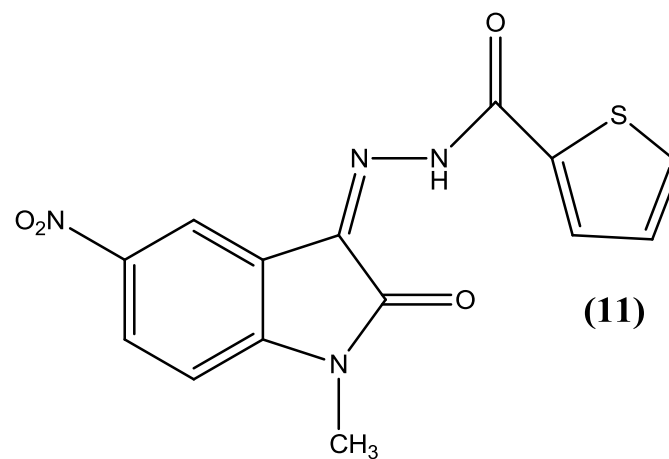
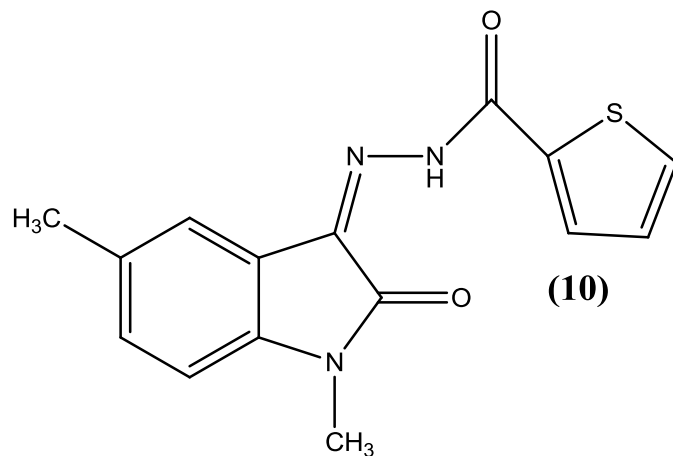
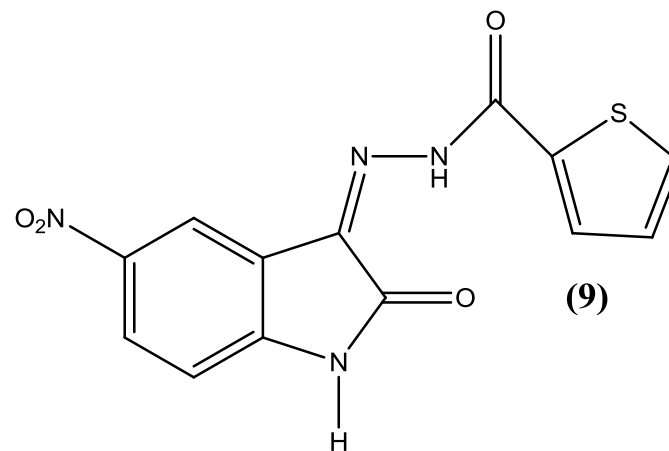
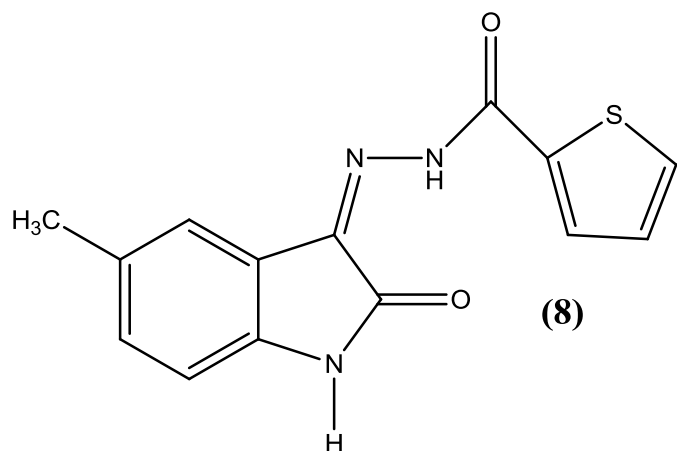




TUJUAN



Untuk mendapatkan empat hidrazona :





METODOLOGI, HASIL, DAN PEMBAHASAN



TAHAPAN PENELITIAN

T1

Metilasi
N-Metil-5-metilisatin
(14)

T2

Metilasi
N-metil-5-nitroisatin
(15)

T3

Sintesis Hidrazona (8)

T4

Sintesis Hidrazona (9)

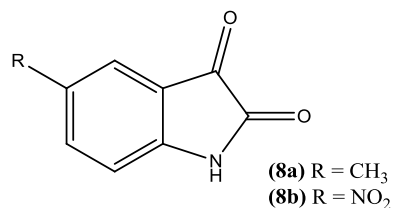
T5

Sintesis Hidrazona (10)

T6

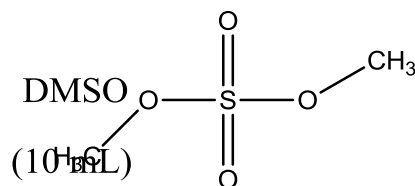
Sintesis Hidrazona (11)

METILASI 5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN

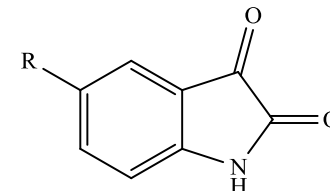


1 ekivalen

NaH
2 ekivalen

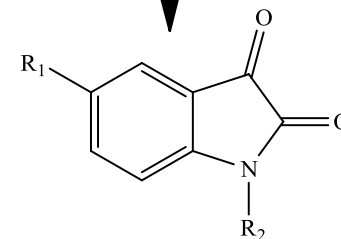


1 ekivalen

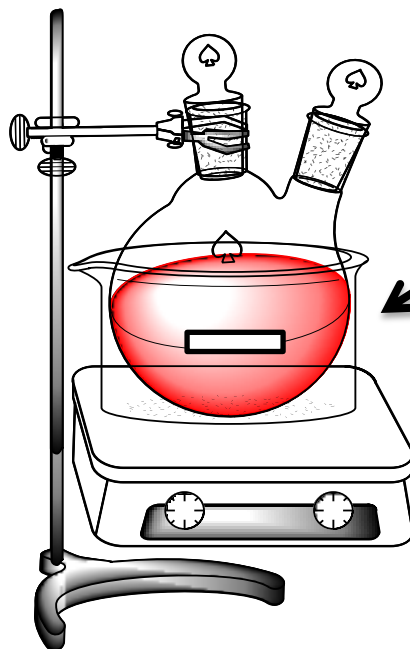


(12) R = CH₃
(5b) R = NO₂

1. NaH, DMSO
2. DMS



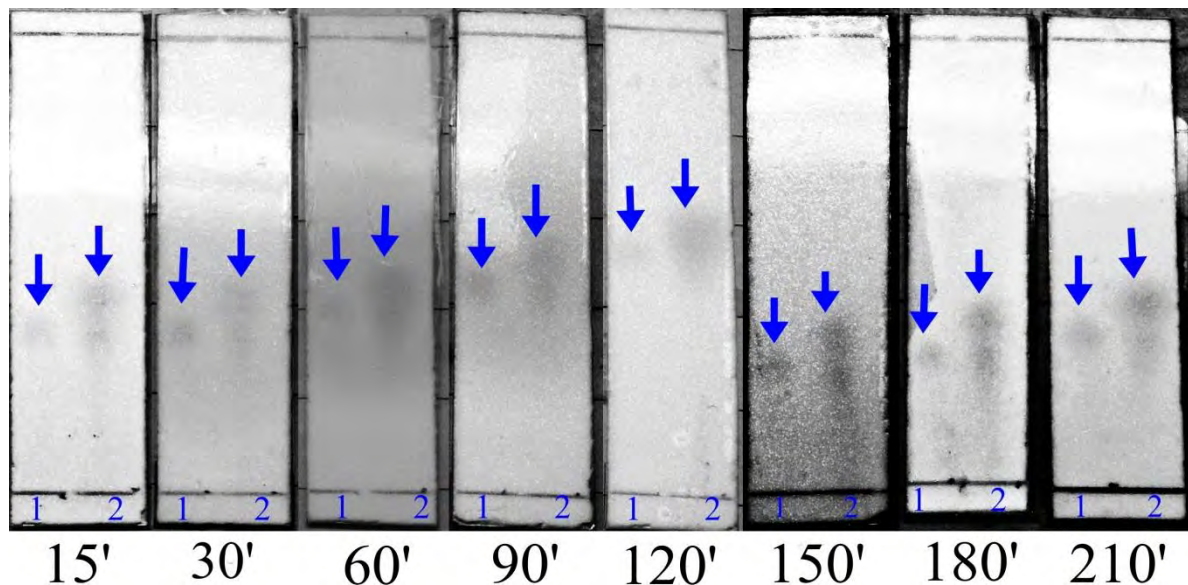
(14) R₁ = CH₃ R₂ = CH₃
(15) R₁ = NO₂ R₂ = CH₃



Penangas es

T1

METILASI 5-METILISATIN



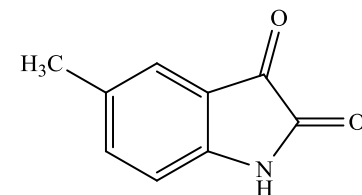
Keterangan :

1. 5-metilisatin (12)

2. Hasil reaksi

eluen :

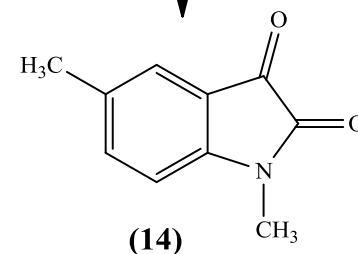
n-heksana – etil asetat (2:1)



(12)

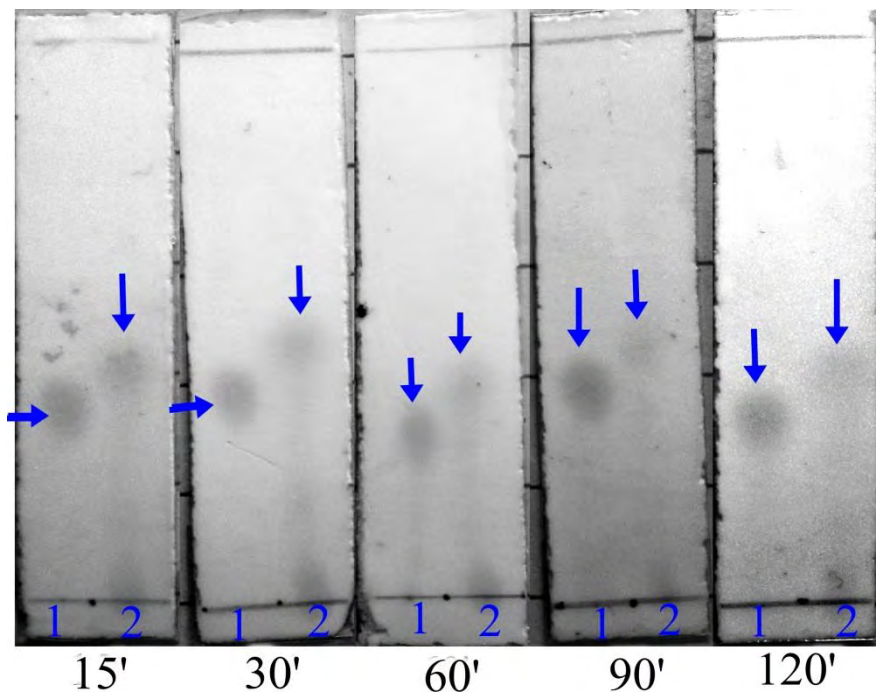
1. NaH,
DMSO

2. DMS



(14)

METILASI 5-NITROISATIN



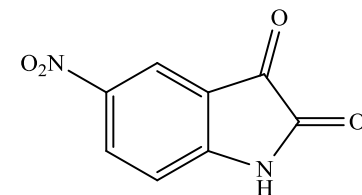
Keterangan :

1. 5-nitroisatin (**5b**)

2. Hasil reaksi

eluen :

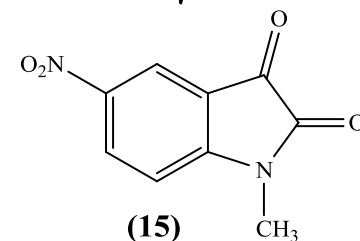
n-heksana – etil asetat (2:1)



(**5b**)

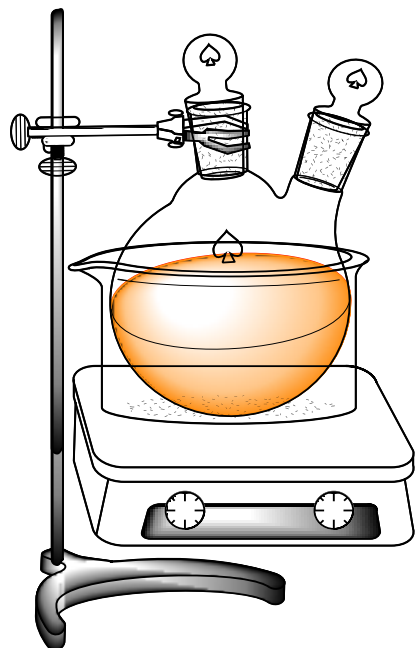
1. NaH,
DMSO

2. DMS



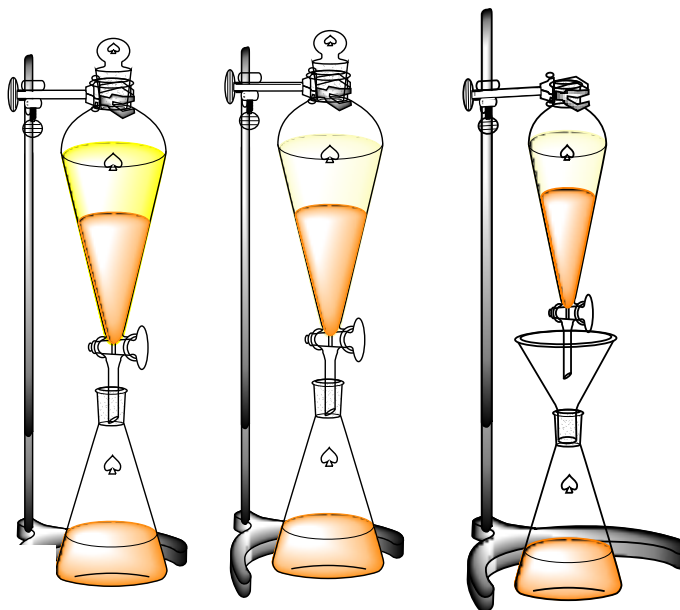
(**15**)

METILASI 5-METILISATIN DAN 5-NITROISATIN

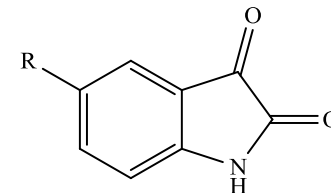


AIR DINGIN
(50 mL)

Diekstraksi
→



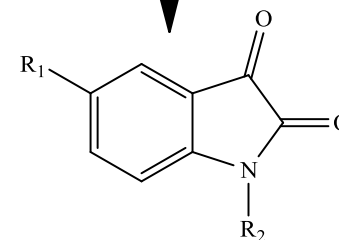
larutan natrium klorida
50 mL 6M (5x50 mL)



(12) R = CH₃

(5b) R = NO₂

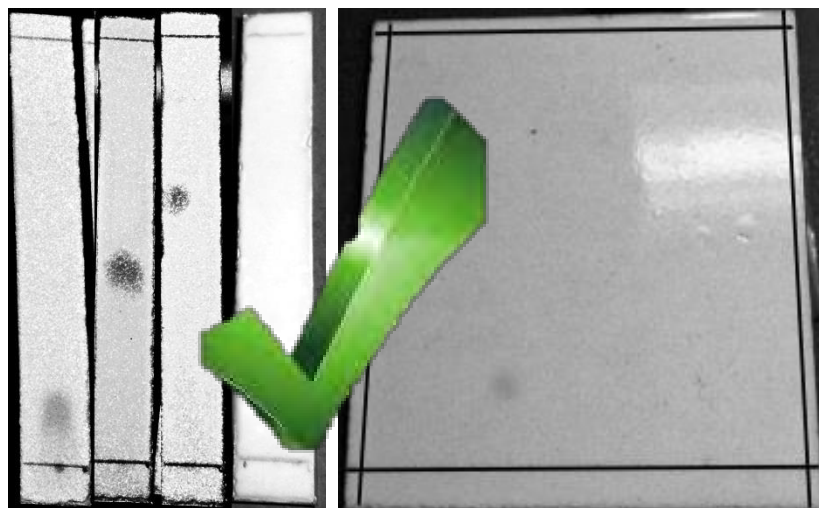
1. NaH, DMSO
2. DMS



(14) R₁ = CH₃ R₂ = CH₃

(15) R₁ = NO₂ R₂ = CH₃

METILASI 5-METILISATIN



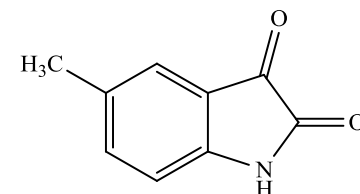
1 2 3 4

5

keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

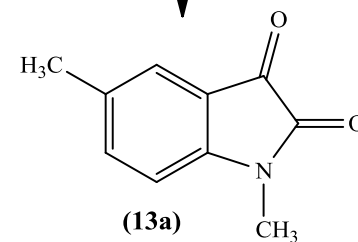
Rentang titik leleh
Sebelum 136-137 °C



(10)

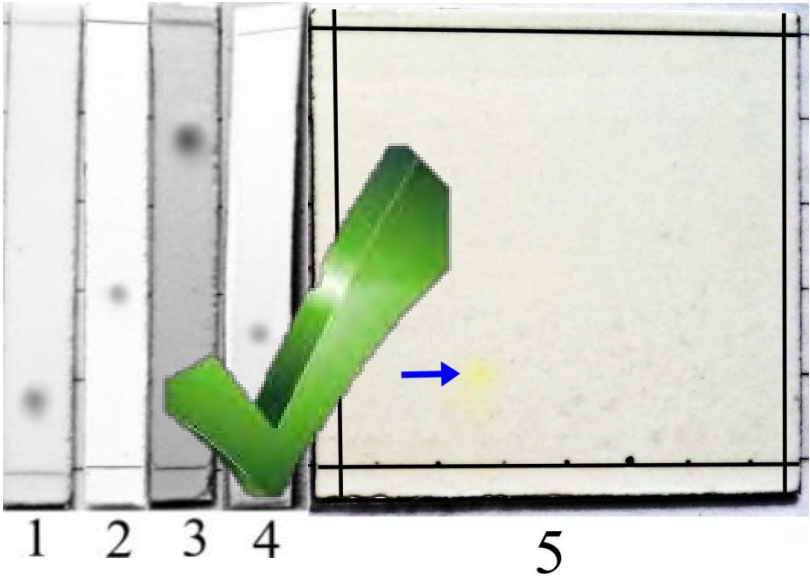
1. NaH,
DMSO

2. DMS



(13a)

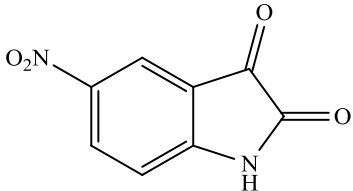
METILASI 5-NITROISATIN



Rentang titik leleh
Sebesar 1-192 °C

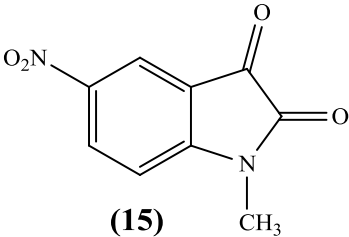
Keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1



(5b)

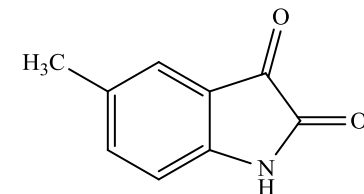
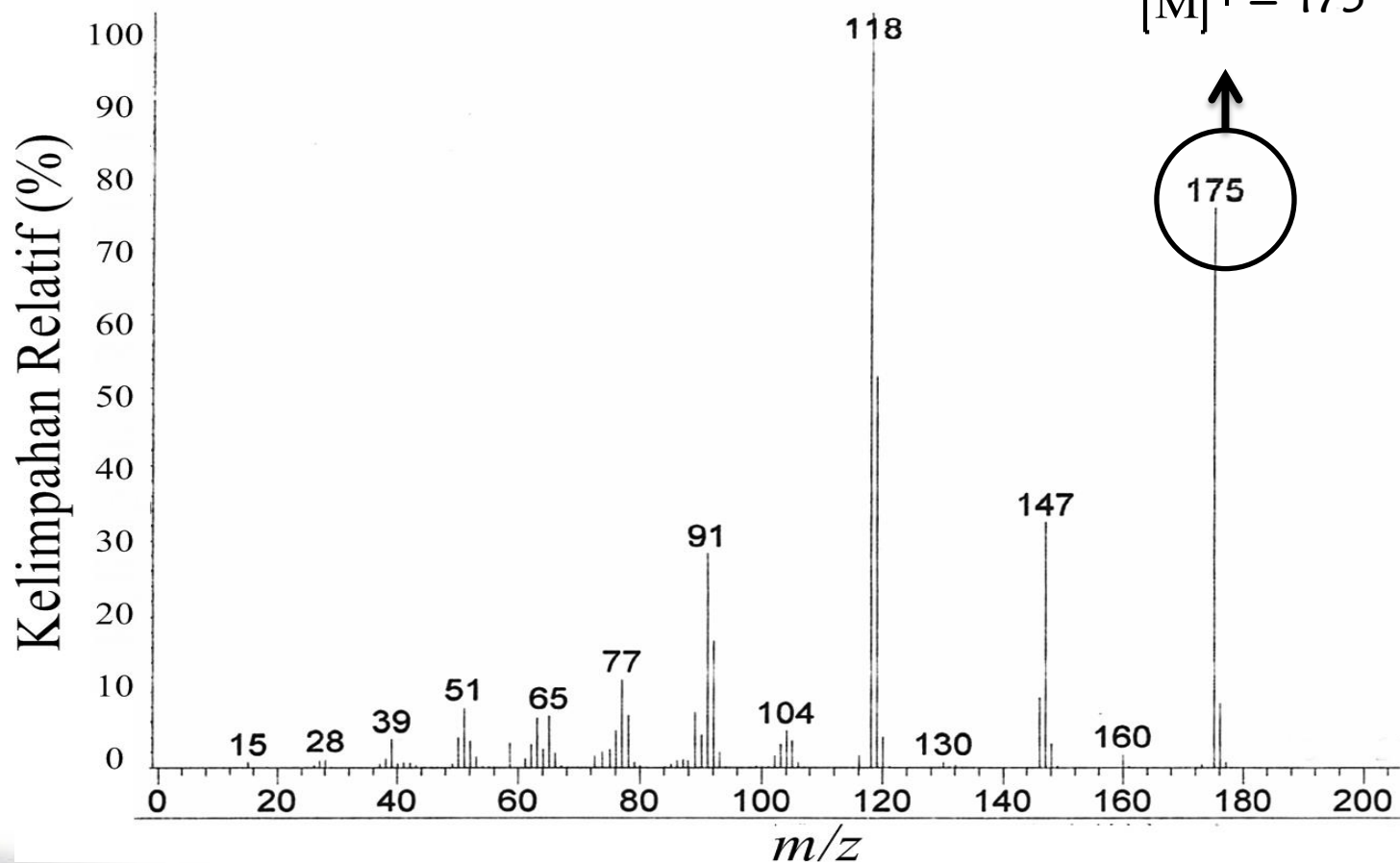
1. NaH,
DMSO 2. DMS



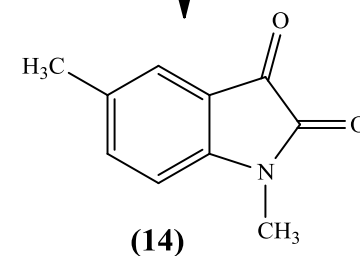
(15)

T1

METILASI 5-METILISATIN



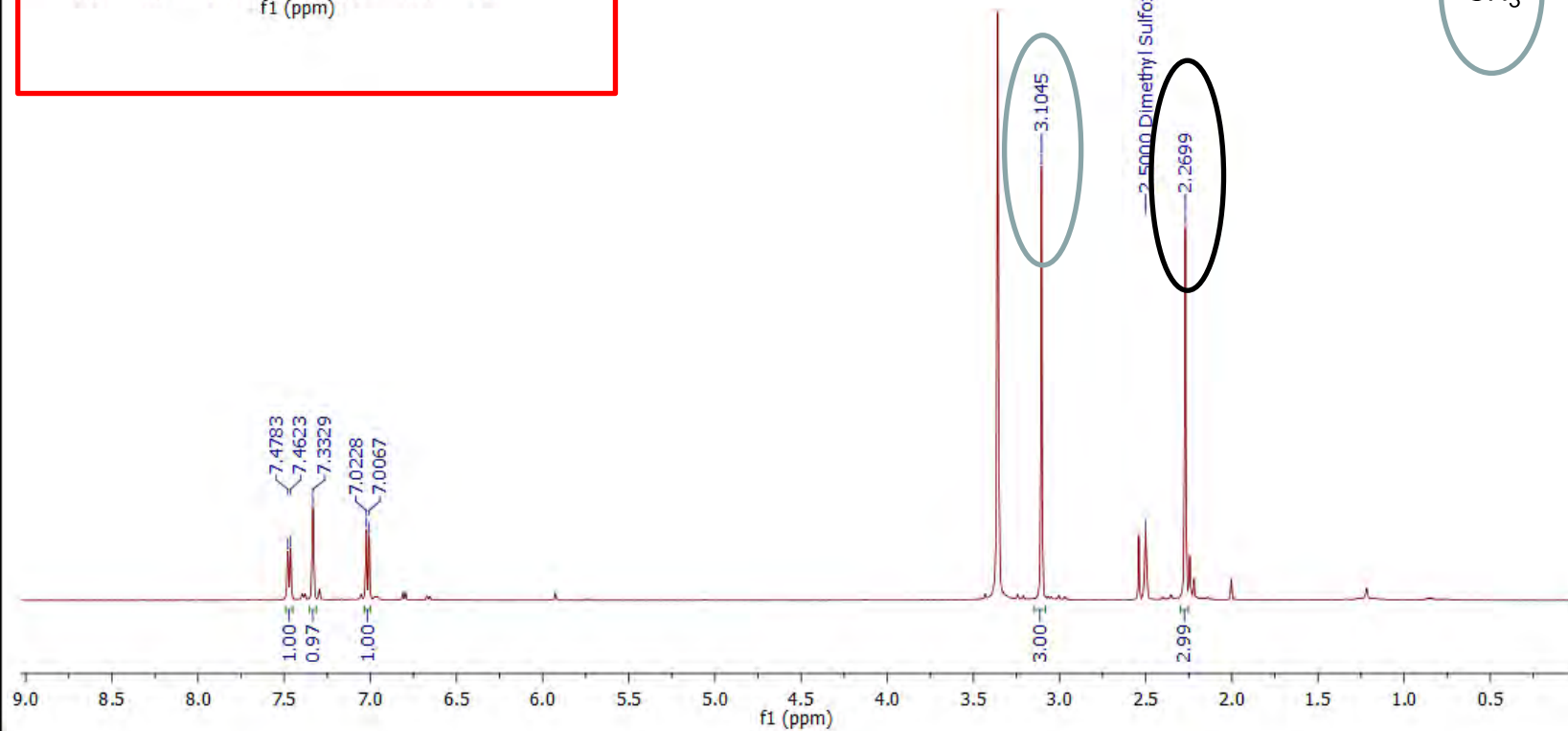
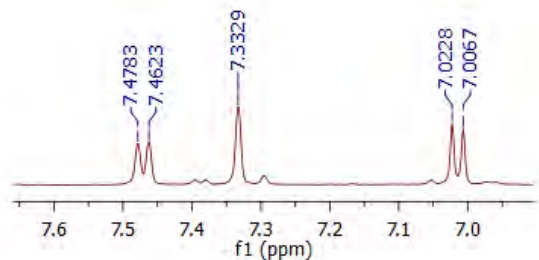
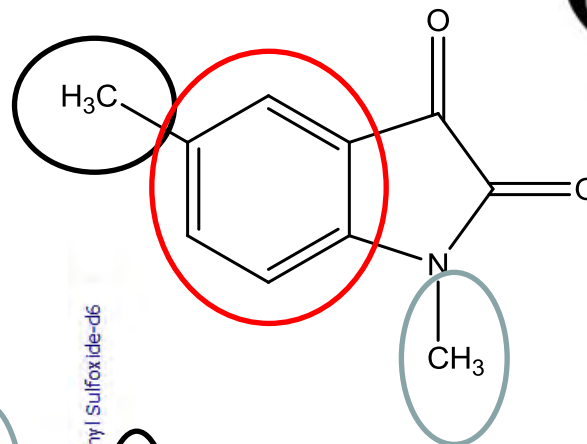
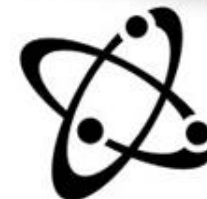
1. NaH,
DMSO 2. DMS



Mr = 175,1840

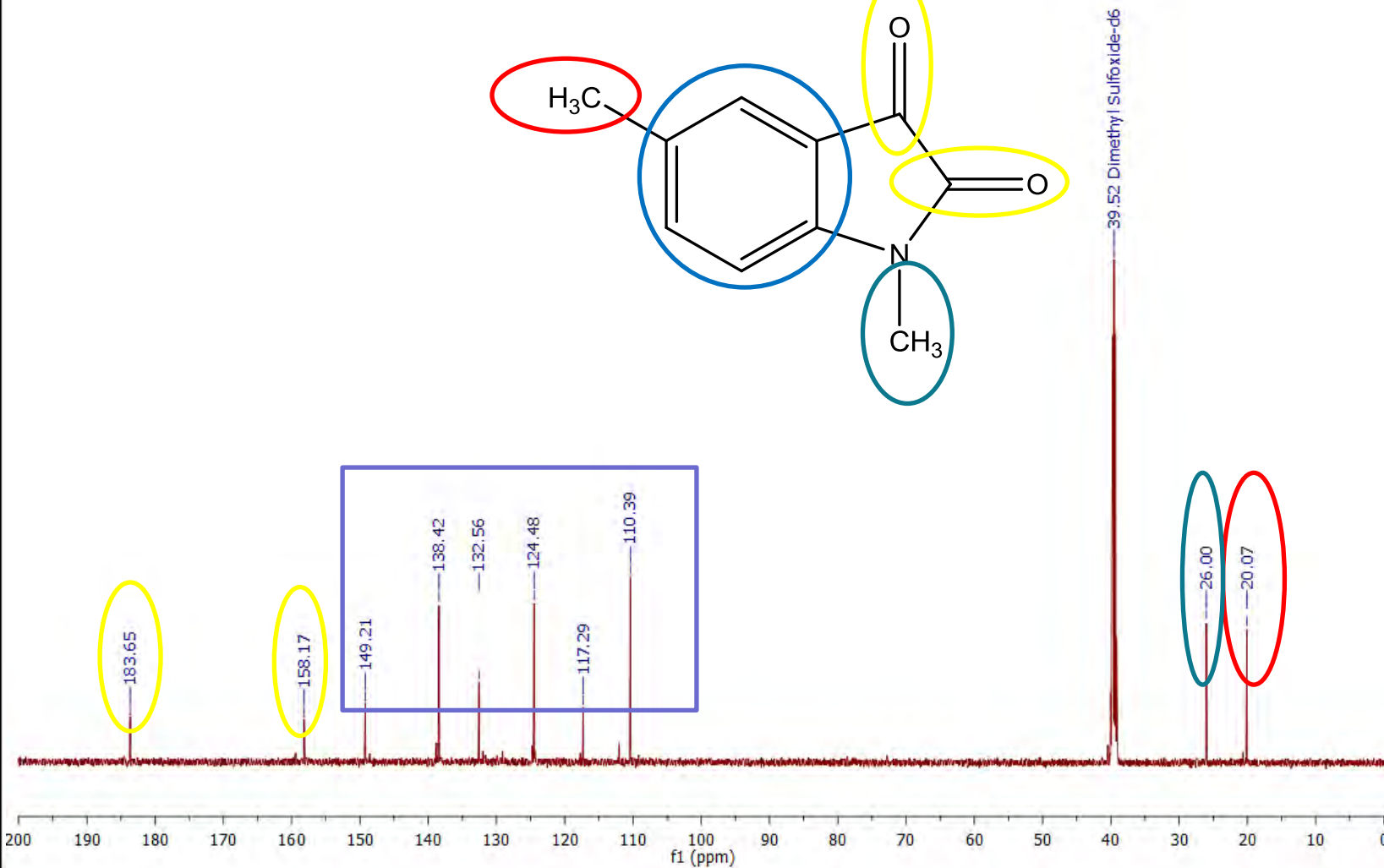
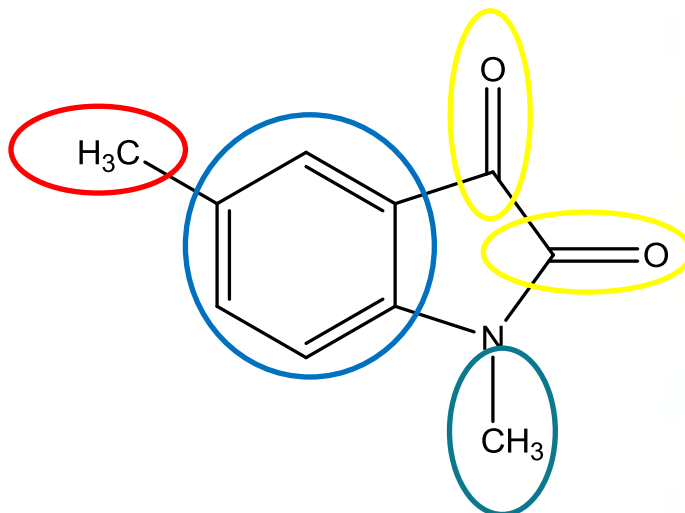
T1

METILASI 5-METILISATIN

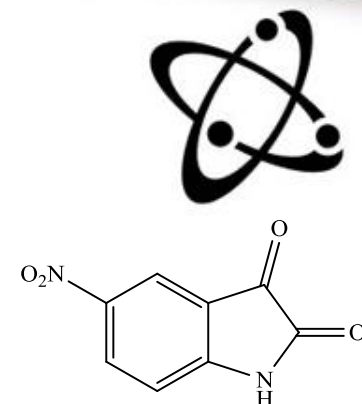
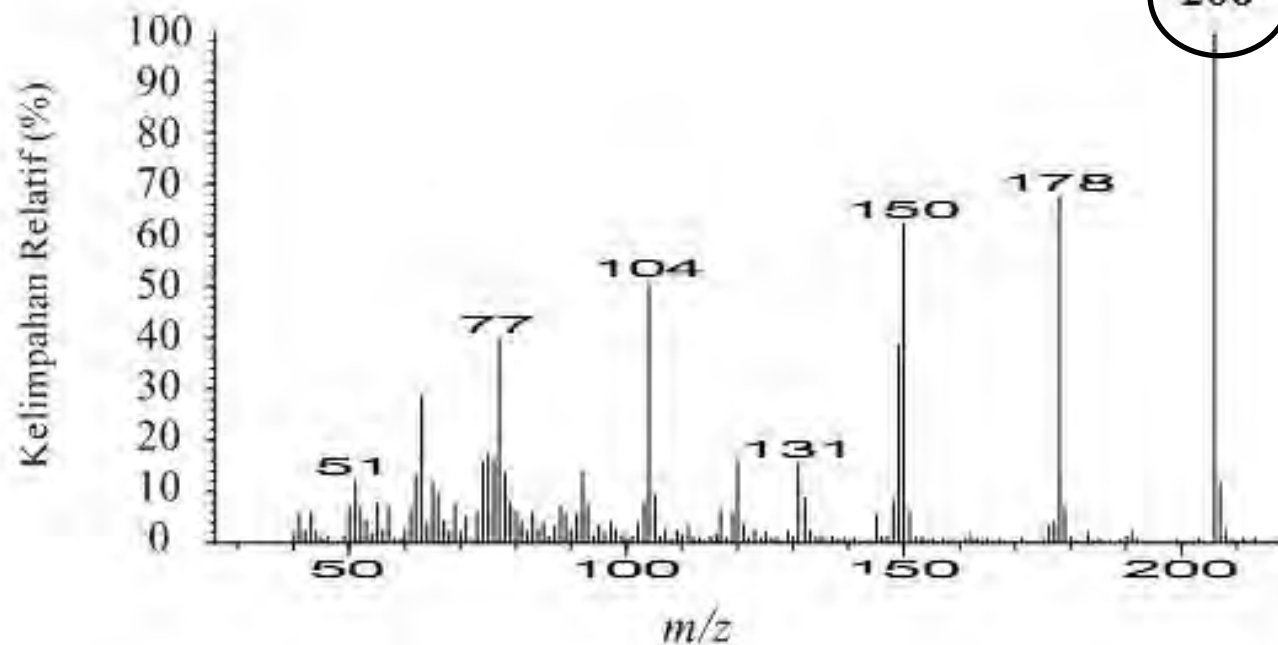


T1

METILASI 5-METILISATIN

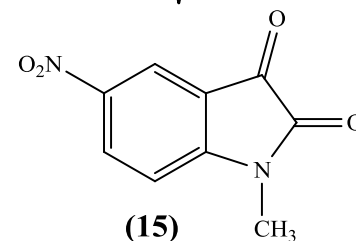


METILASI 5-NITROISATIN



(5b)

1. NaH,
DMSO

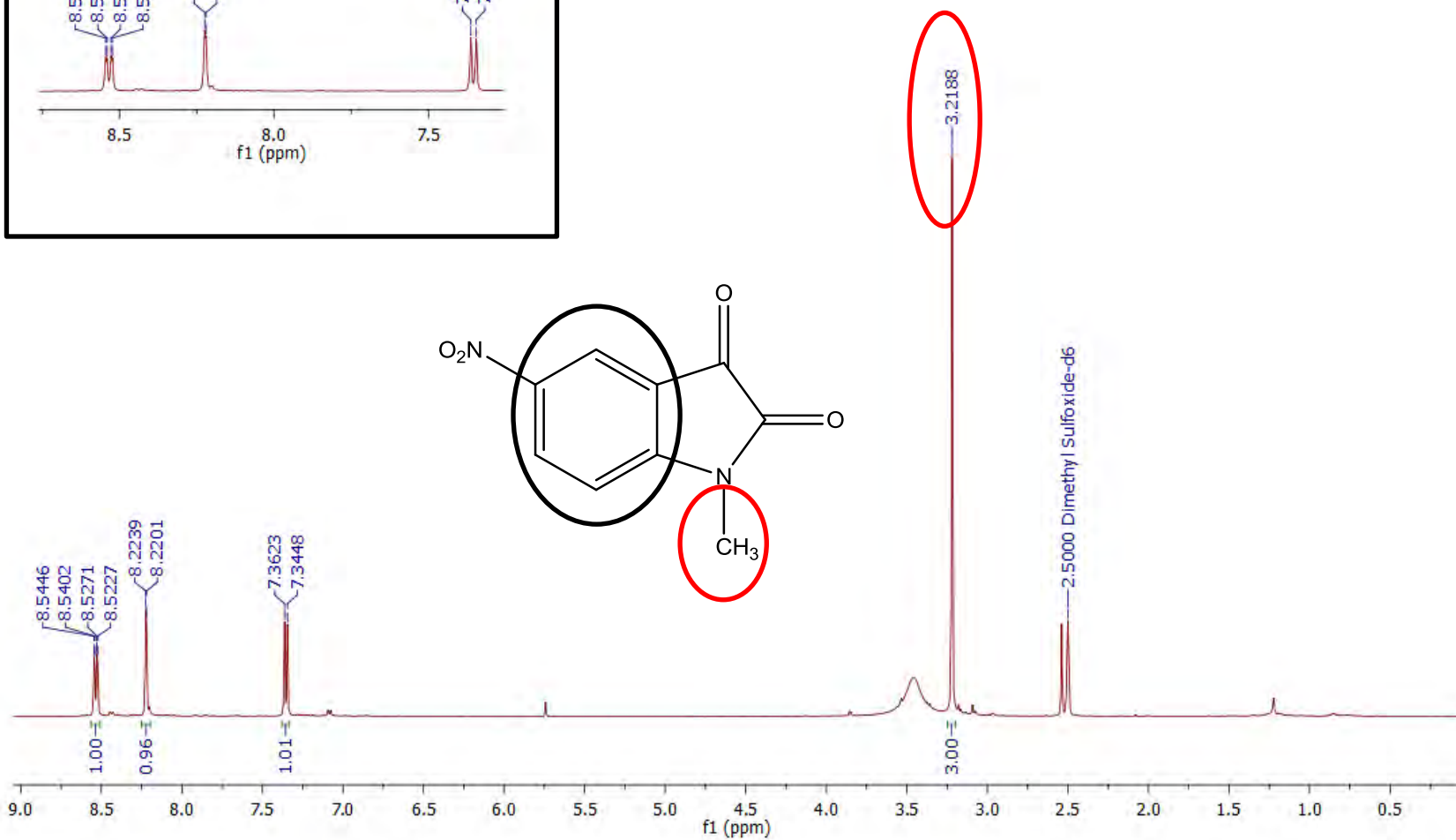
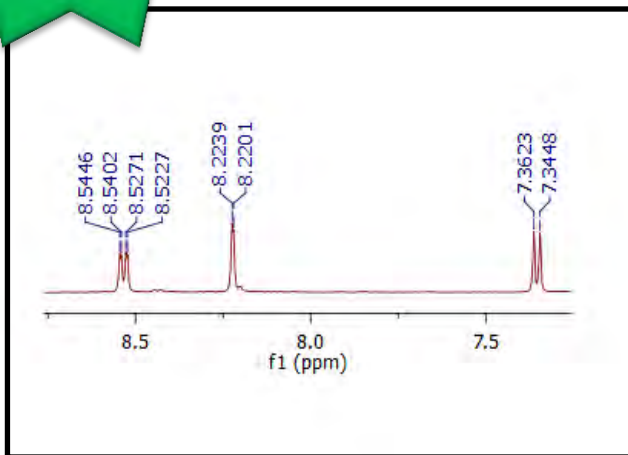


(15)

Mr = 206,1549

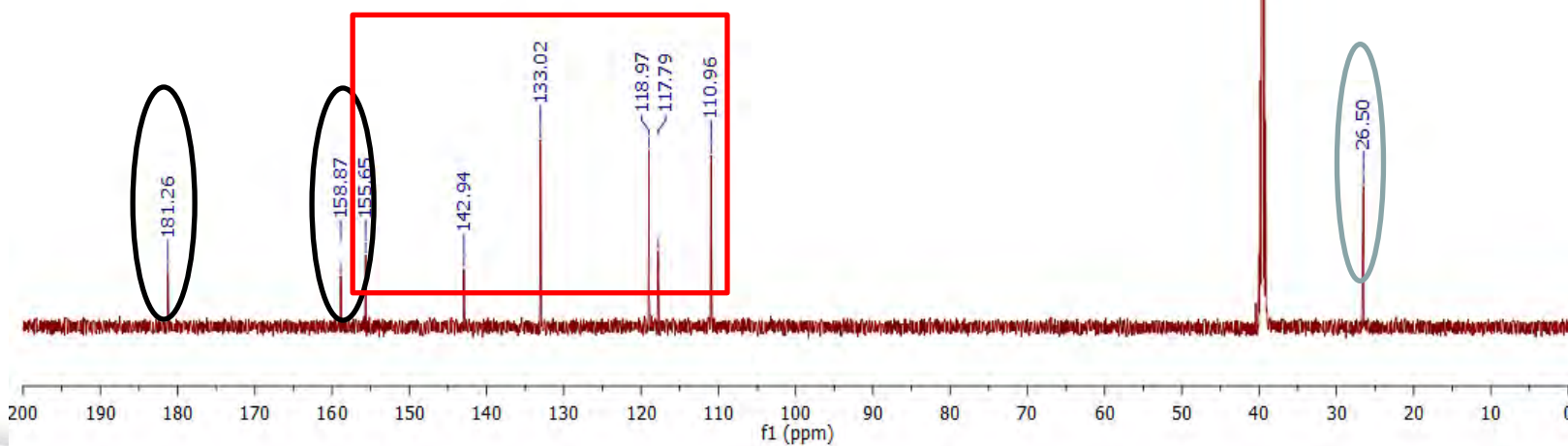
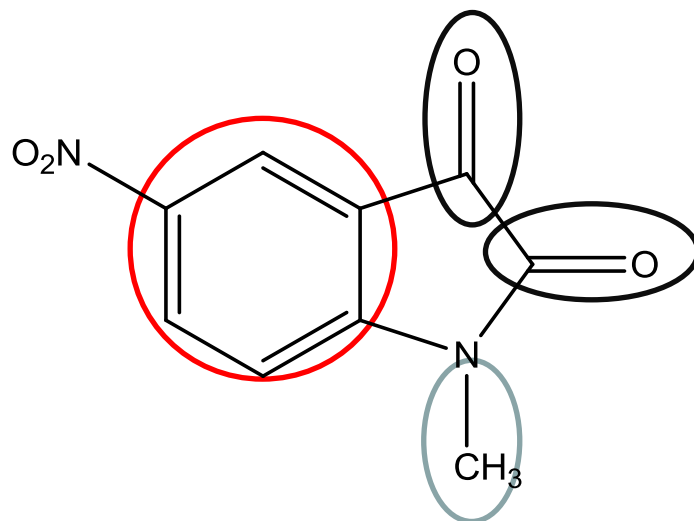
T2

METILASI 5-NITROISATIN

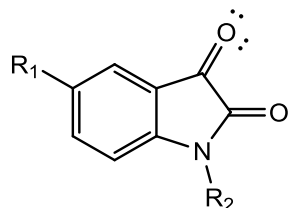


T2

METILASI 5-NITROISATIN

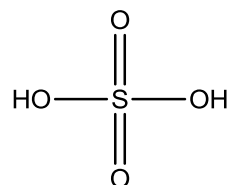
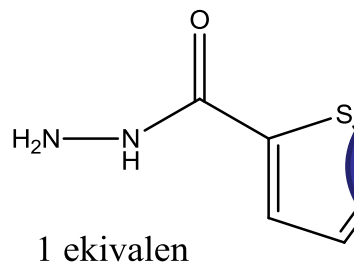
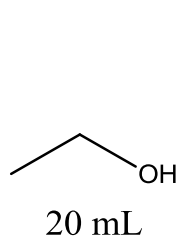


SINTESIS HIDRAZONA



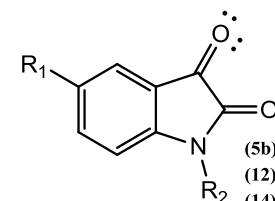
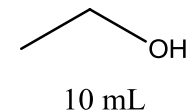
1 ekivalen

- (5b) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{H}$
 (12) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{H}$
 (14) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_3$
 (15) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{CH}_3$



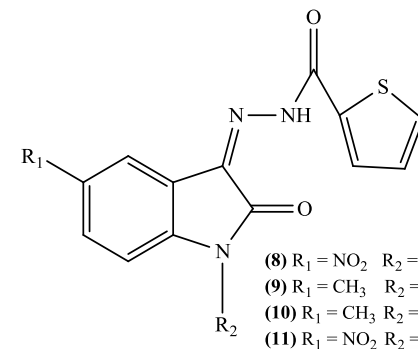
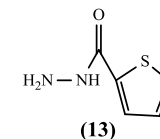
3 tetes

Larutan

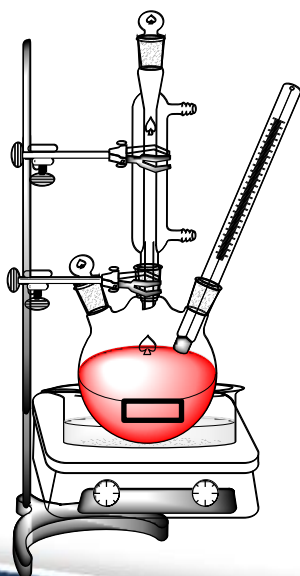


- (5b) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{H}$
 (12) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{H}$
 (14) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_3$
 (15) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{CH}_3$

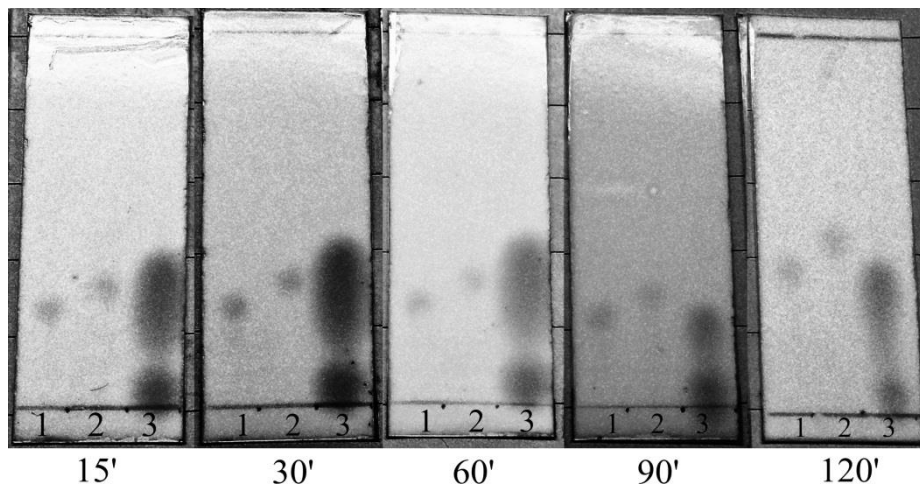
Refluks,
Etanol,
78°C



- (8) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{H}$
 (9) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{H}$
 (10) $R_1 = \text{CH}_3$ $R_2 = \text{CH}_3$
 (11) $R_1 = \text{NO}_2$ $R_2 = \text{CH}_3$



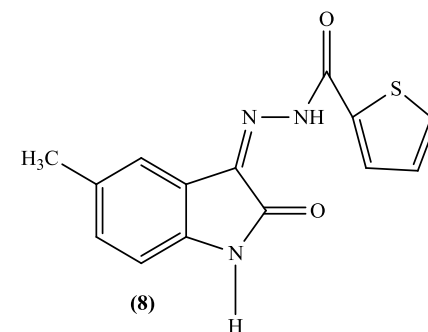
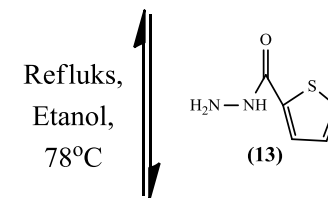
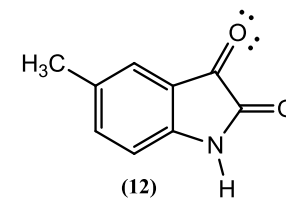
SINTESIS HIDRAZONA 8



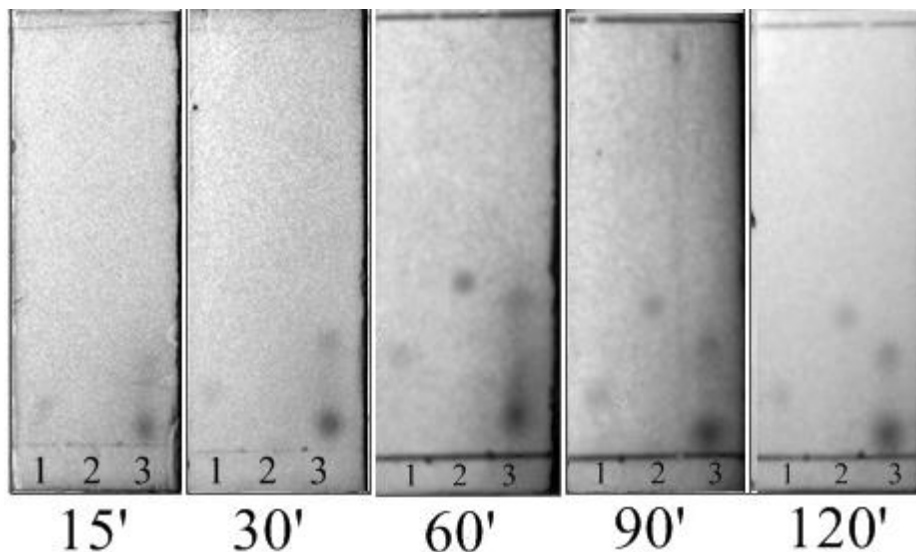
Keterangan :

1. 5-metilisatin (12)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (13)

eluen : *n*-heksana–etil asetat (2:1)



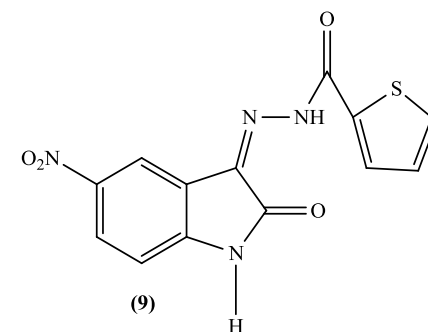
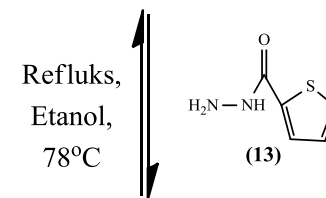
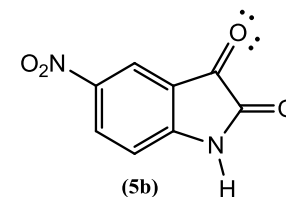
SINTESIS HIDRAZONA 9



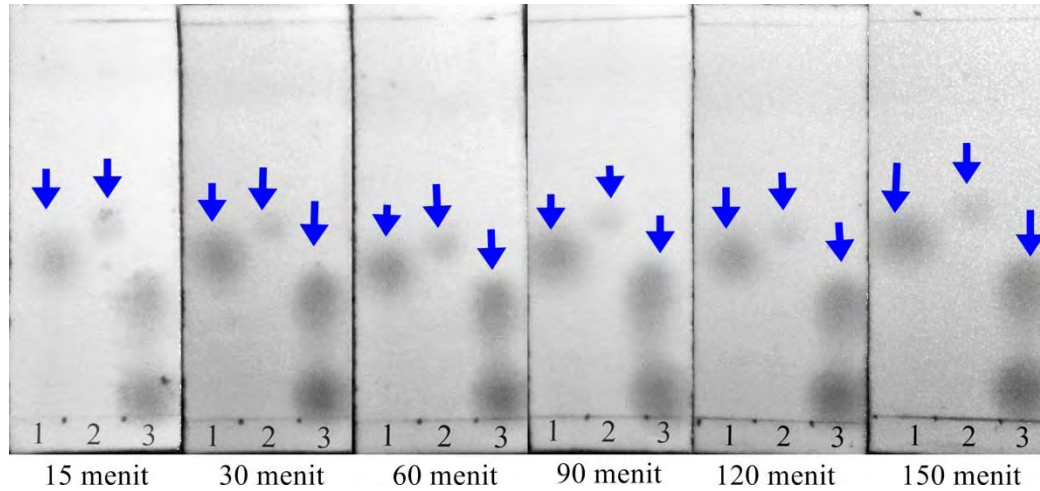
Keterangan :

1. 5-nitroisatin (**5b**)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**13**)

eluen : *n*-heksana–etil asetat (2:1)



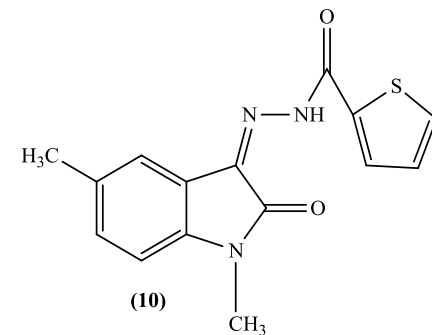
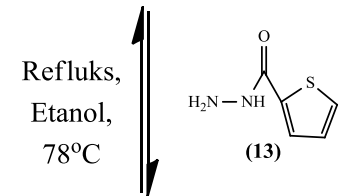
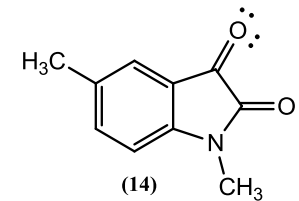
SINTESIS HIDRAZONA (10)



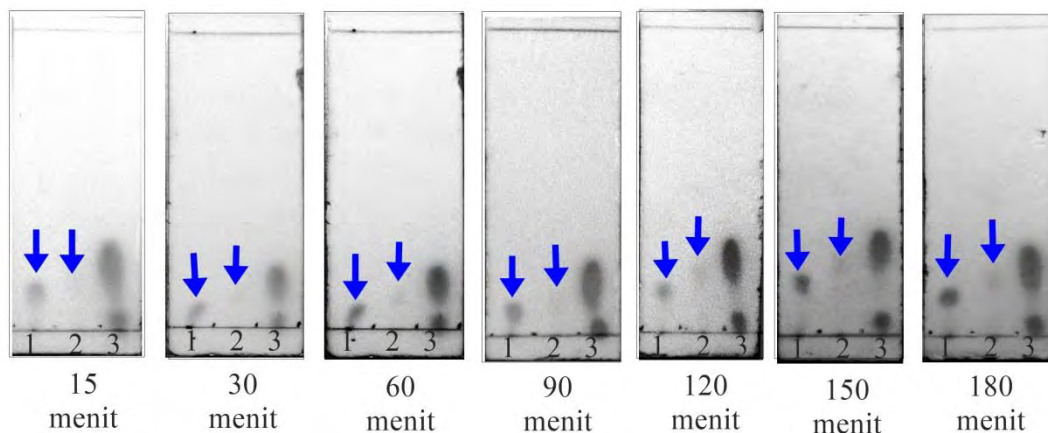
Keterangan :

1. *N*-Metil-5-metilisinatin (14)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (13)

eluen : *n*-heksana–etil asetat (2:1)



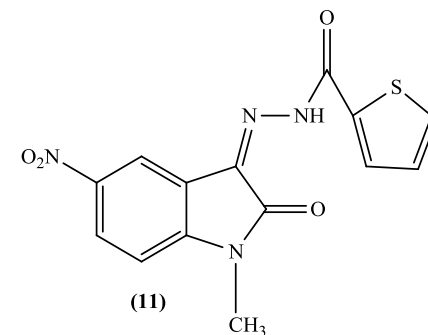
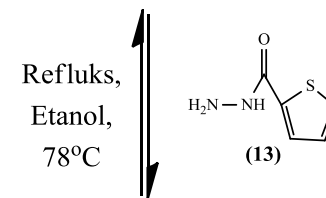
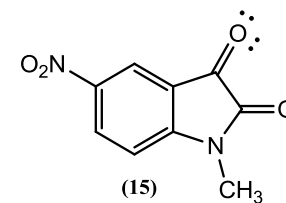
SINTESIS HIDRAZONA (11)



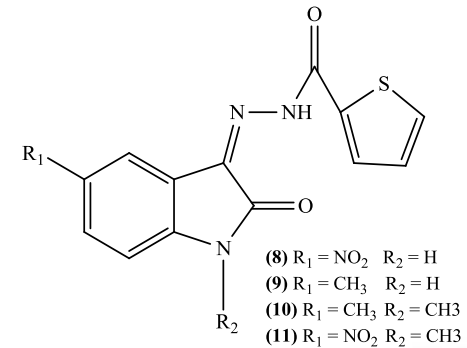
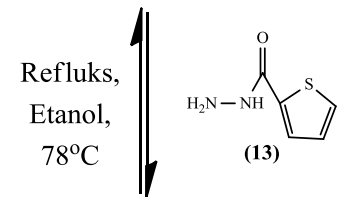
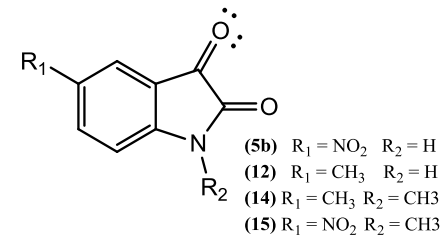
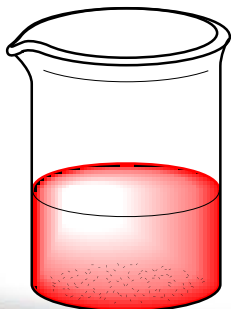
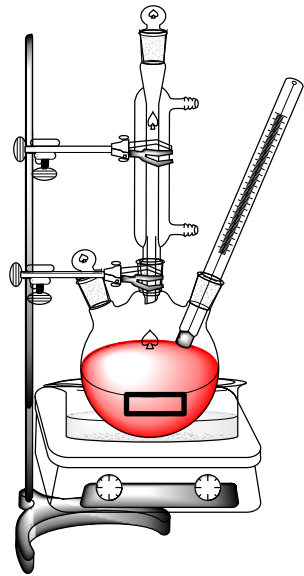
Keterangan :

1. *N*-Metil-5-nitroisatin (15)
2. Hasil reaksi
3. asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (13)

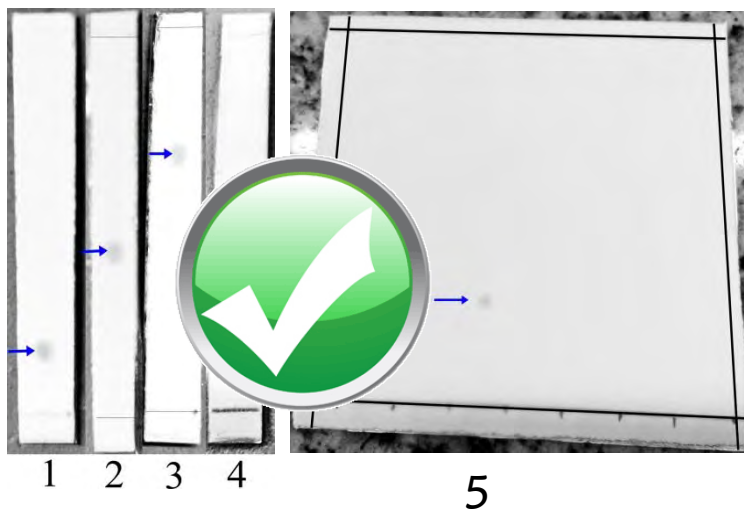
eluen : *n*-heksana–etil asetat (2:1)



SINTESIS HIDRAZONA



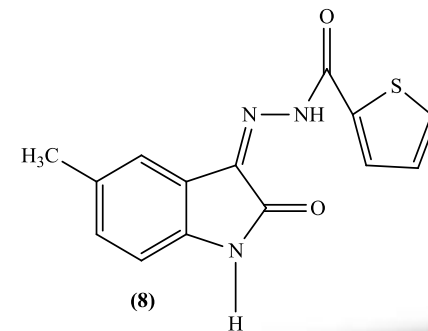
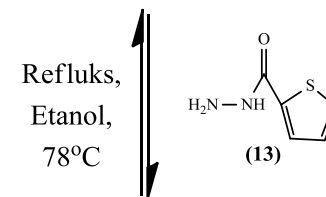
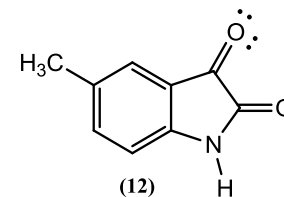
SINTESIS HIDRAZONA (8)



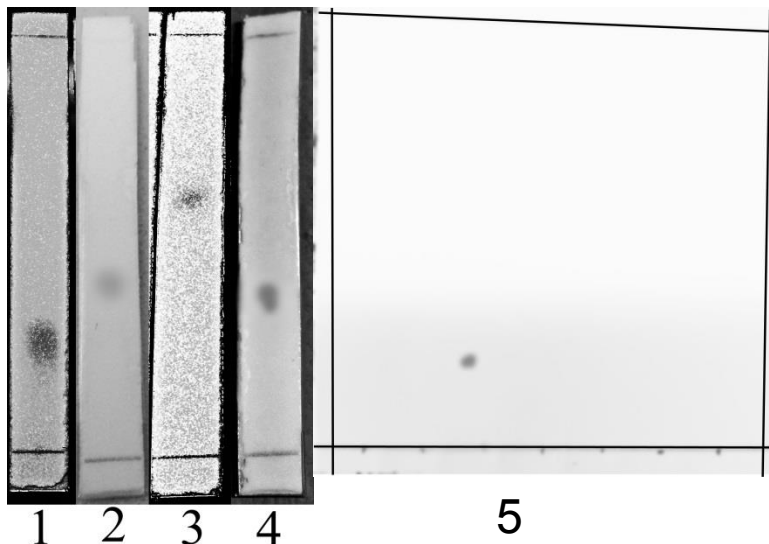
keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

titik leleh  ar
252-253°C



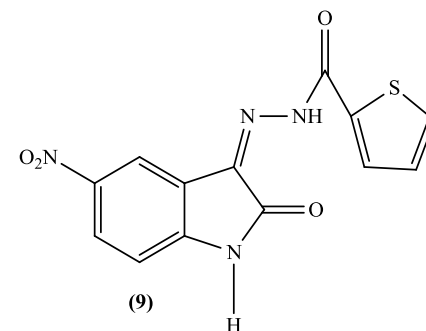
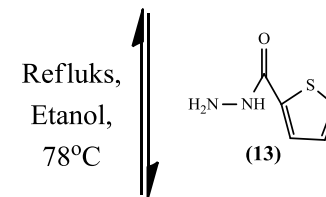
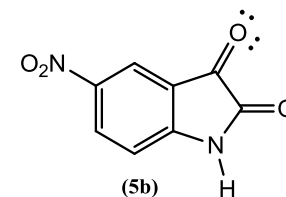
SINTESIS HIDRAZONA (9)



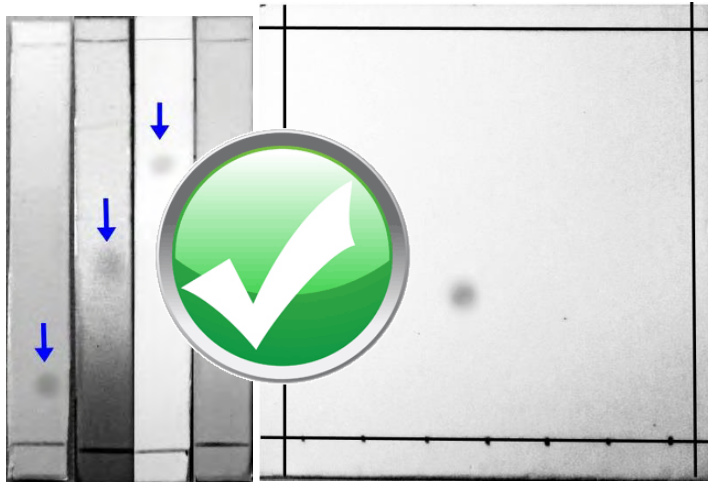
keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

titik leleh  325-330°C



SINTESIS HIDRAZONA (10)

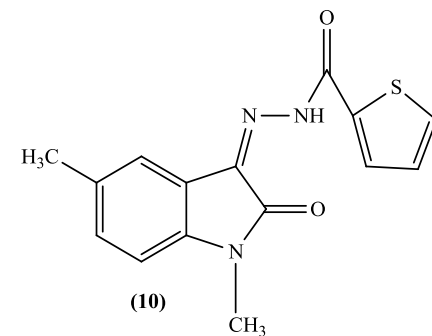
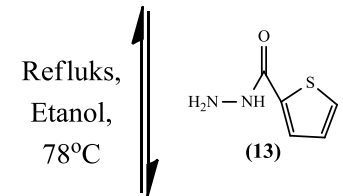
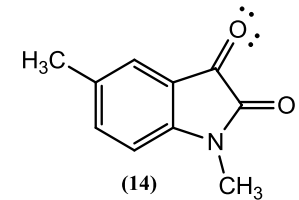


1 2 3 4 5

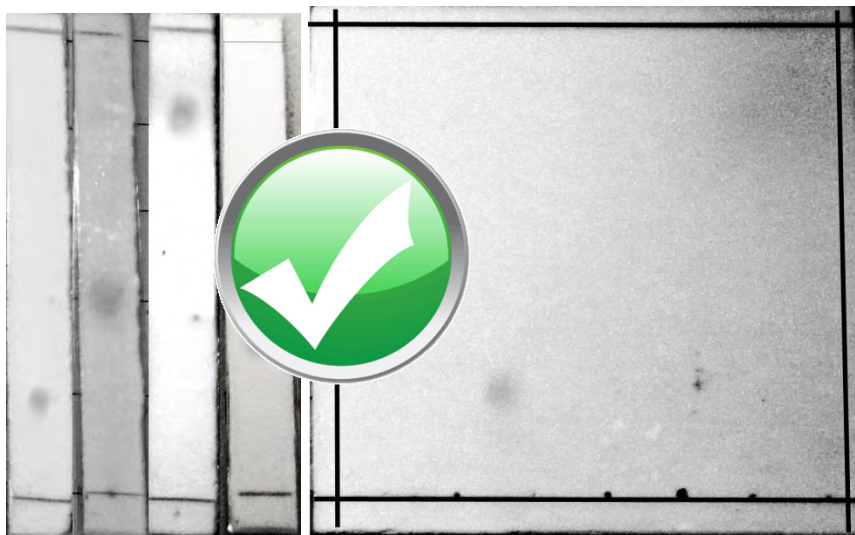
keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

Titik lebur besar
180°C



SINTESIS HIDRAZONA (11)



1 2 3 4 5

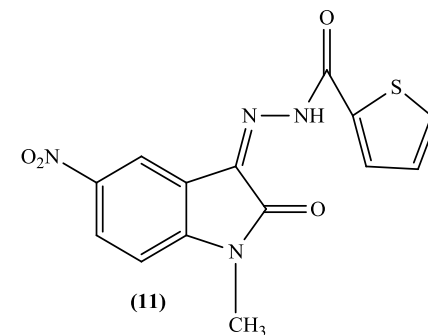
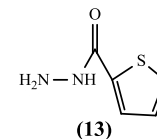
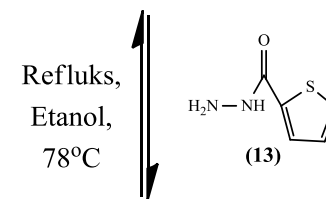
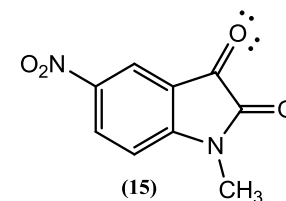
keterangan eluen:

1. *n*-heksana – etil asetat 2:1
2. *n*-heksana – etil asetat 1:1
3. *n*-heksana – etil asetat 1:2
4. kloroform – etil asetat 3:1
5. *n*-heksana – etil asetat 2:1

Titik lebur sebesar

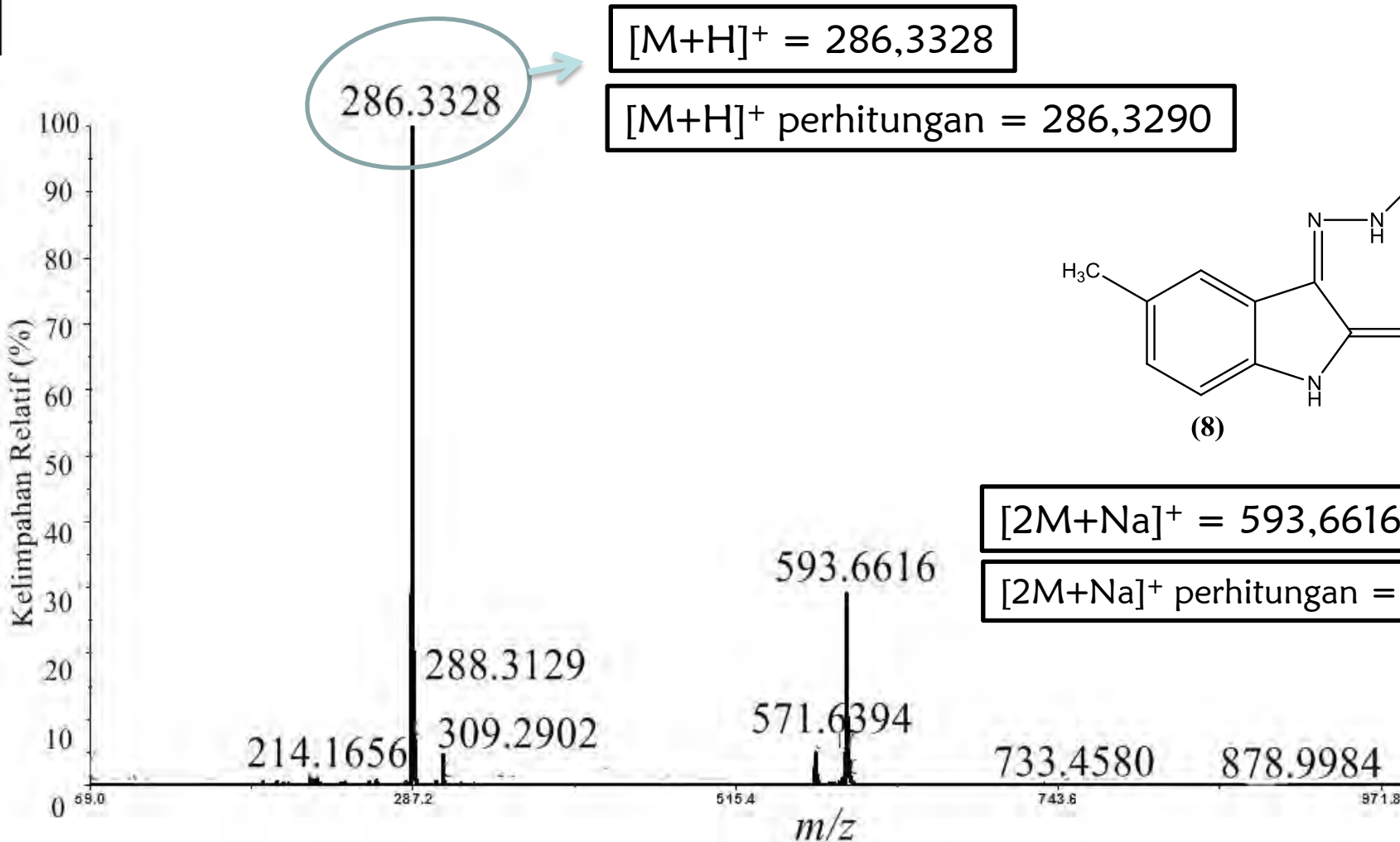
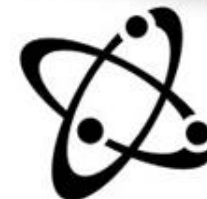


2°C



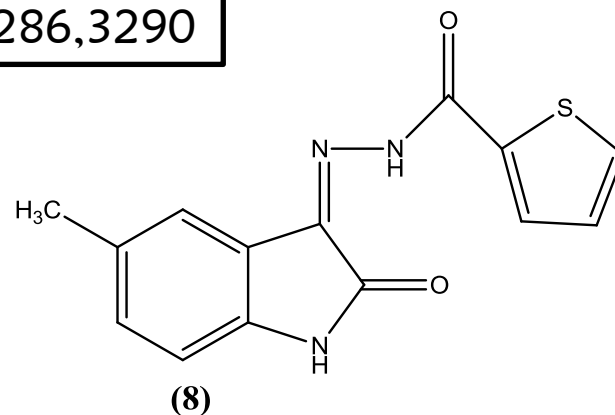
T3

SINTESIS HIDRAZONA (8)



$[M+H]^+ = 286,3328$

$[M+H]^+$ perhitungan = 286,3290

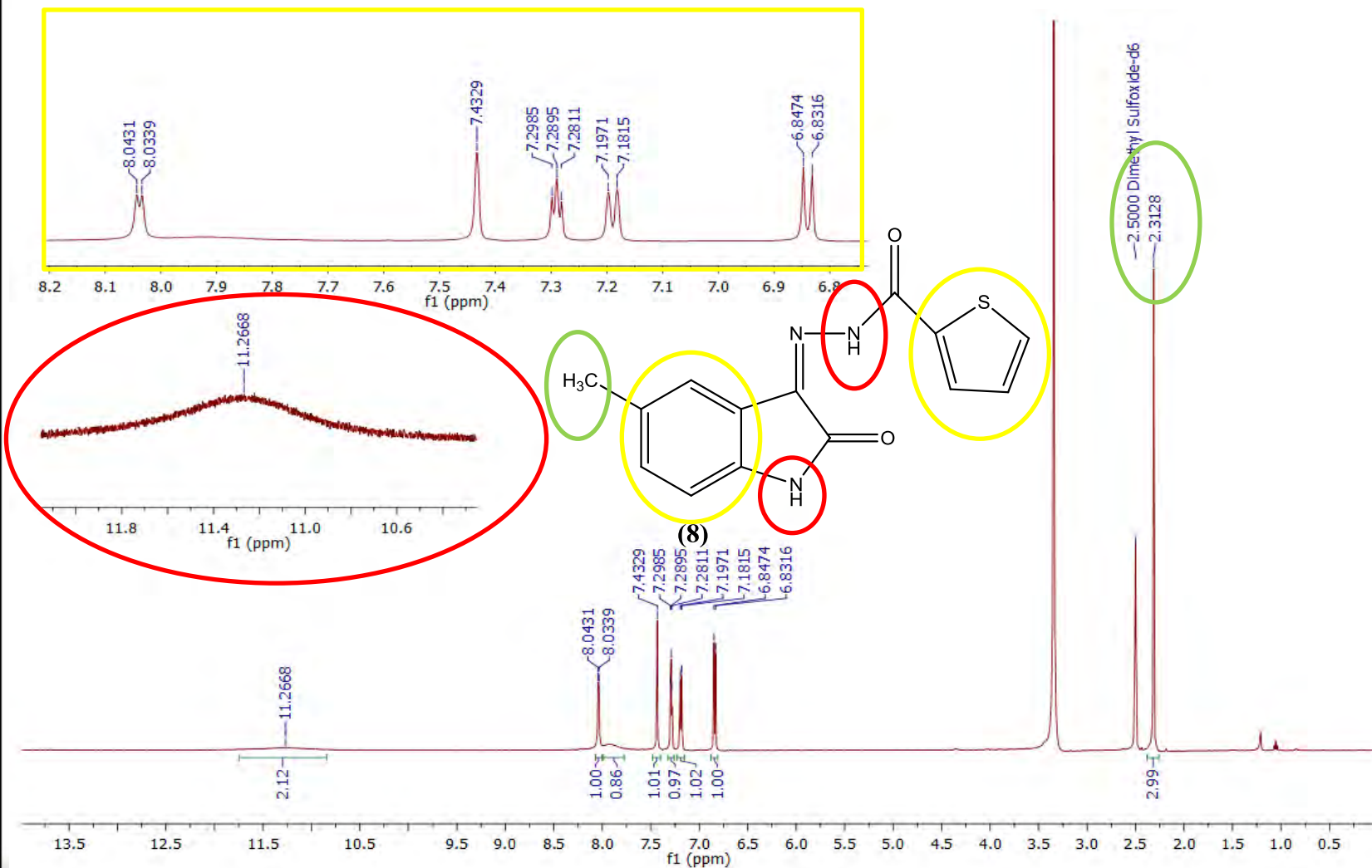


$[2M+Na]^+ = 593,6616$

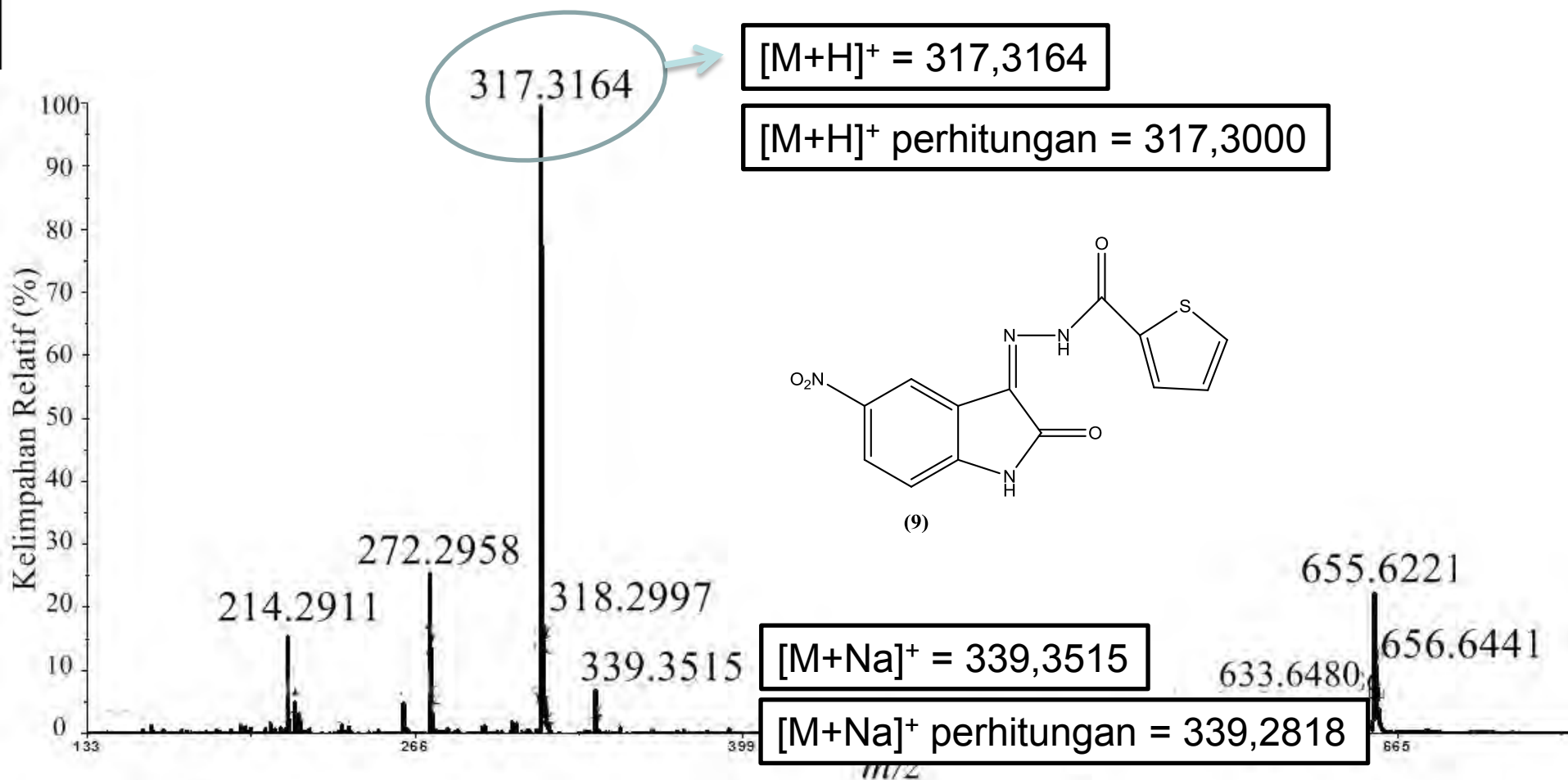
$[2M+Na]^+$ perhitungan = 593,6318

T3

SINTESIS HIDRAZONA (8)

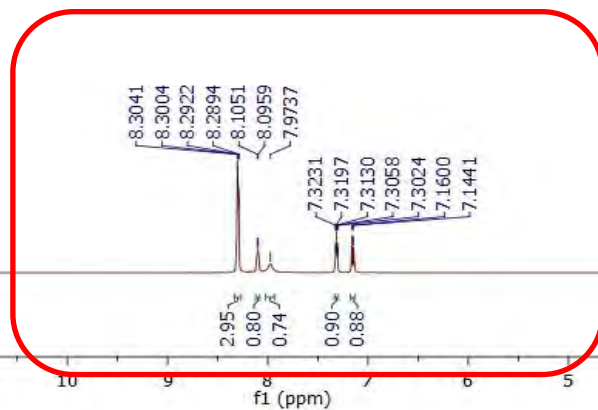
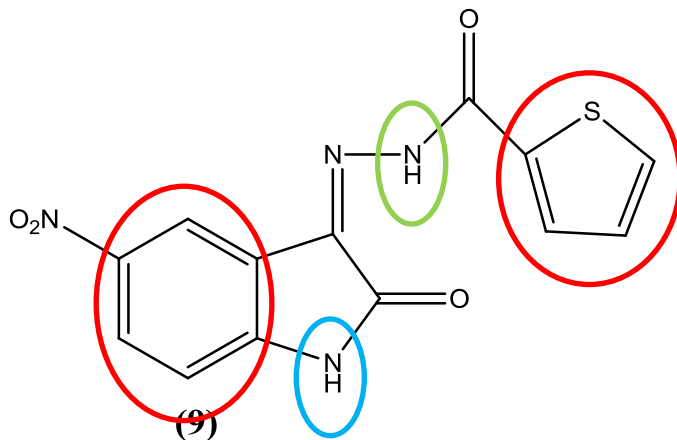


SINTESIS HIDRAZONA (9)



T4

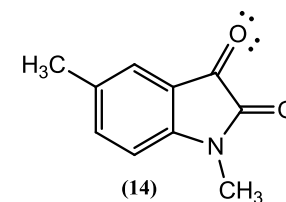
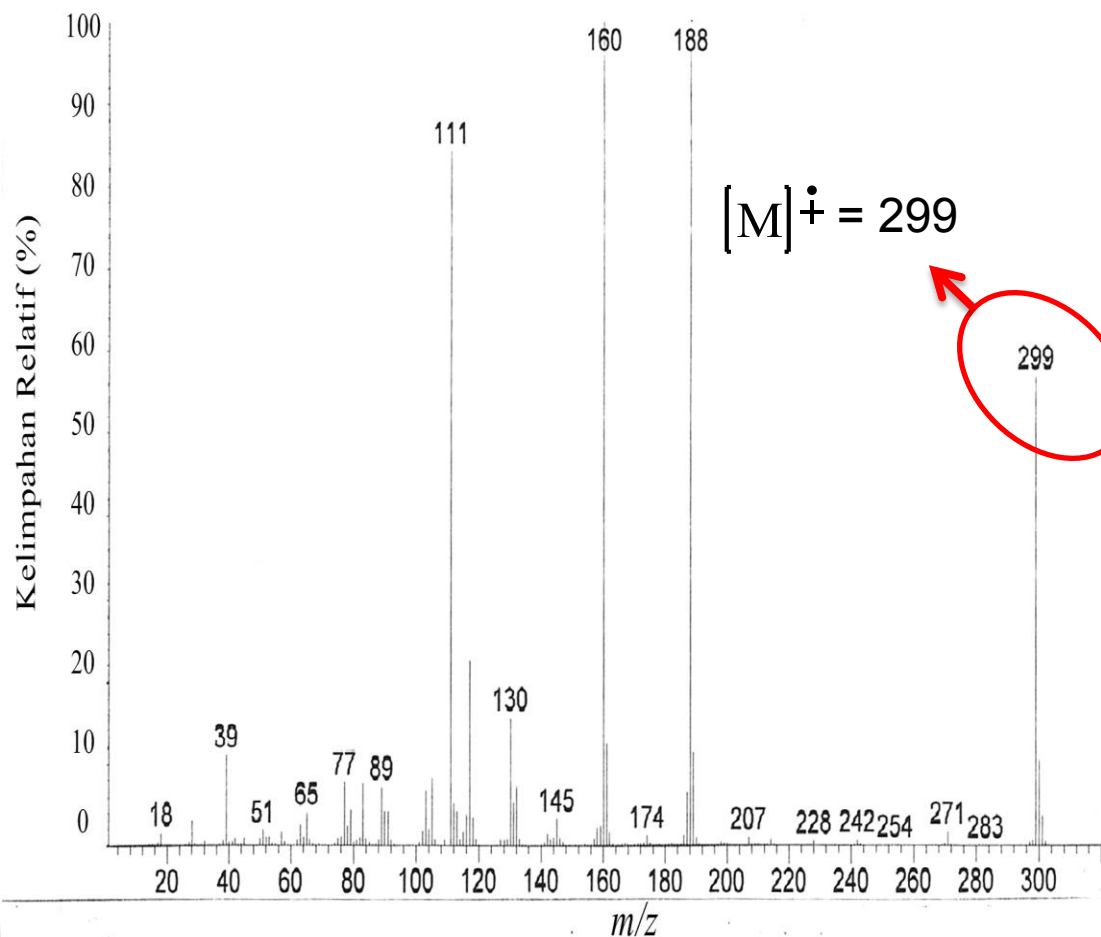
SINTESIS HIDRAZONA (9)



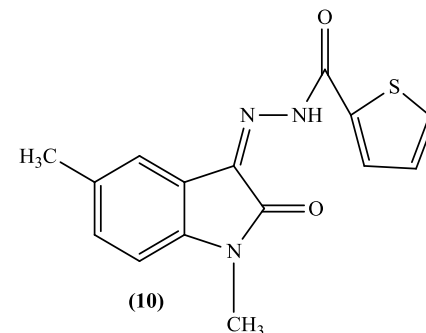
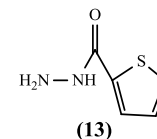
2,5000 Dimethyl Sulfoxide-d6

f1 (ppm)

SINTESIS HIDRAZONA (10)



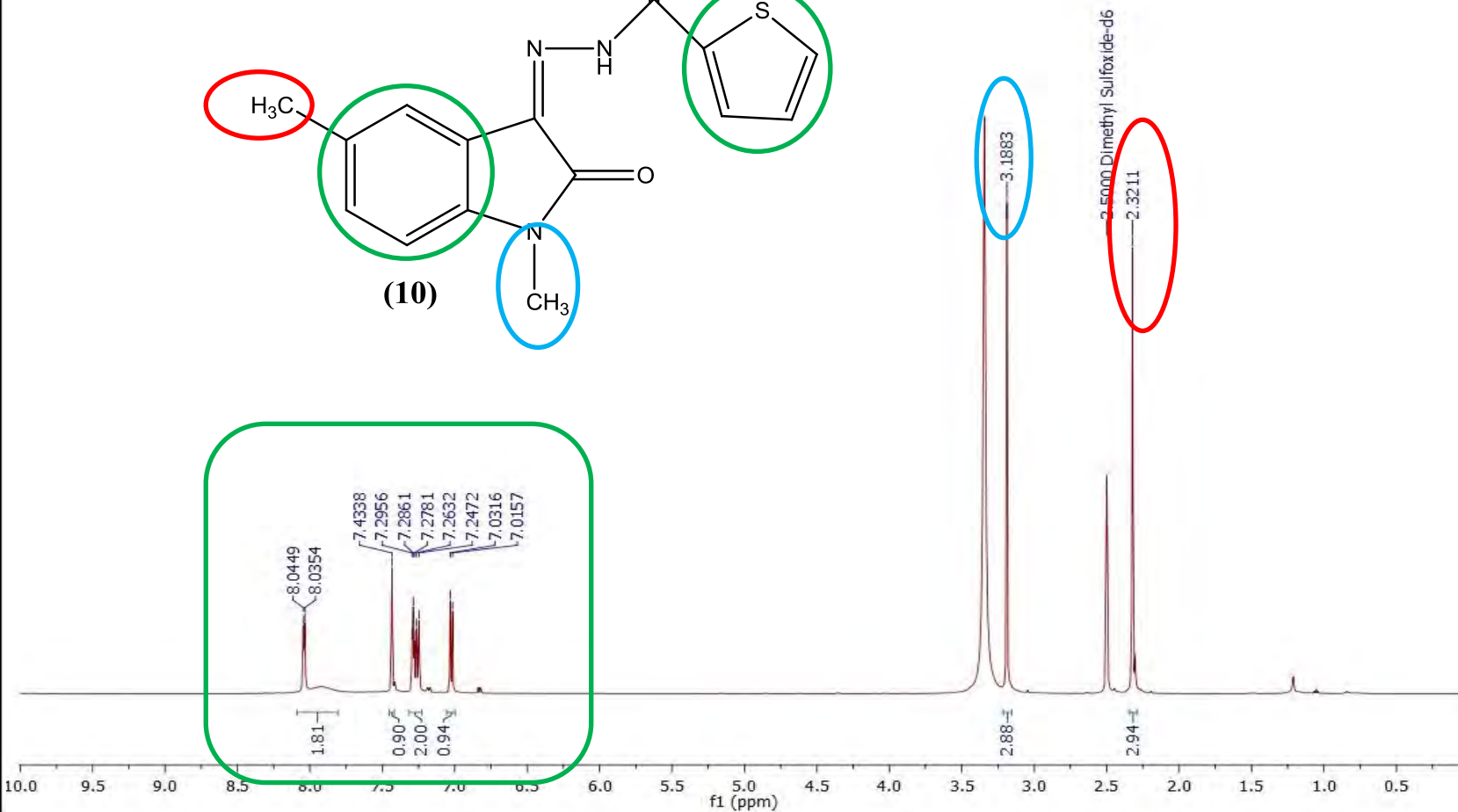
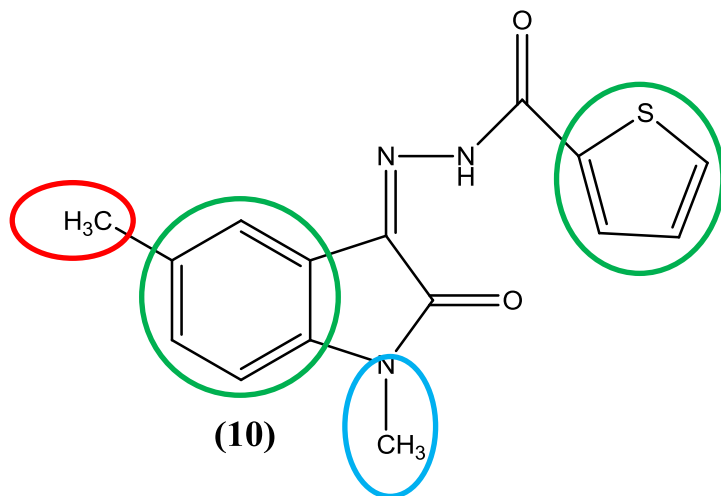
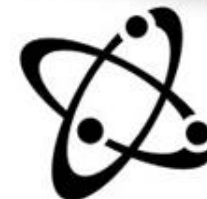
Refluks,
Etanol,
78°C



$Mr = 299,3476$

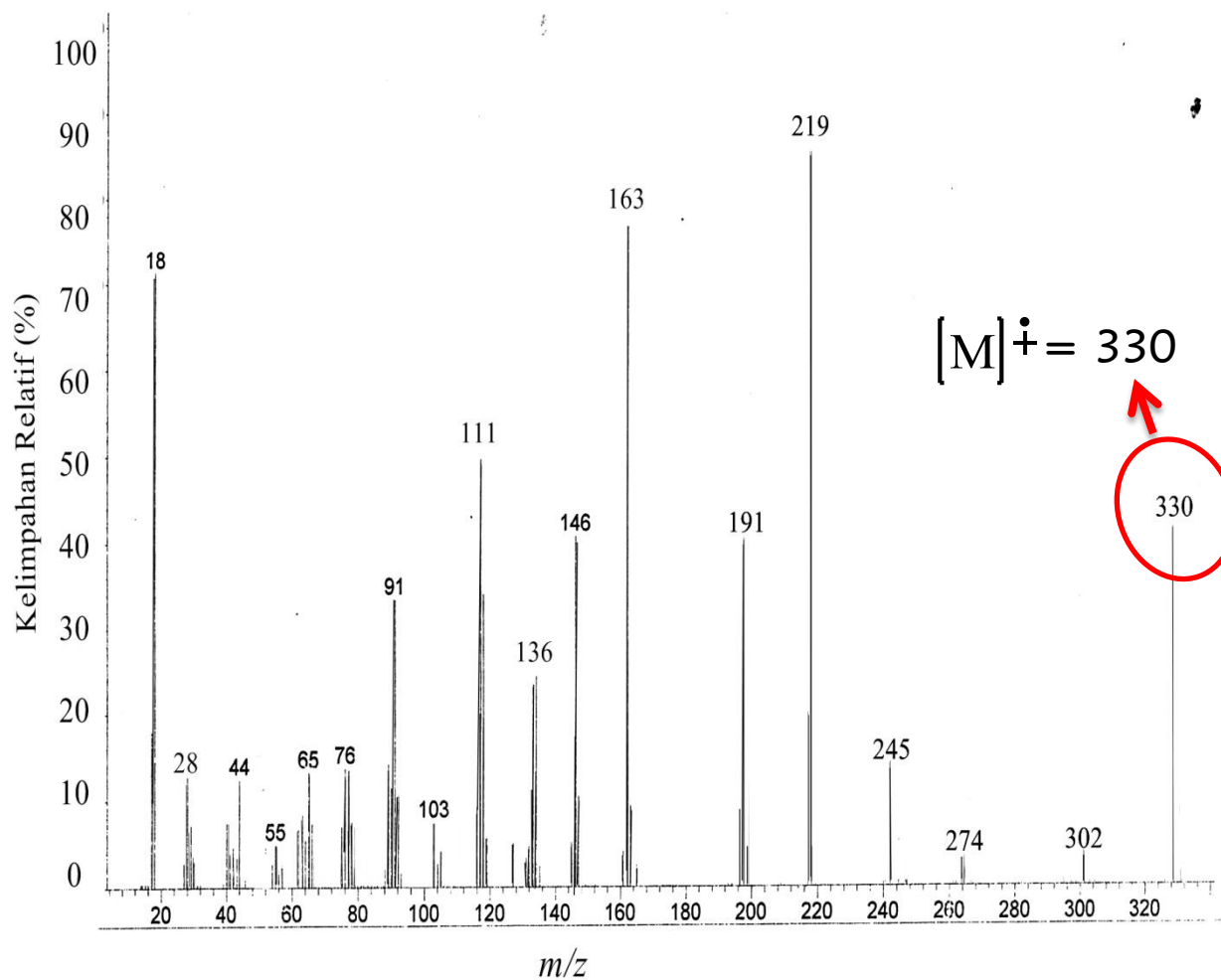
T5

SINTESIS HIDRAZONA (10)



T6

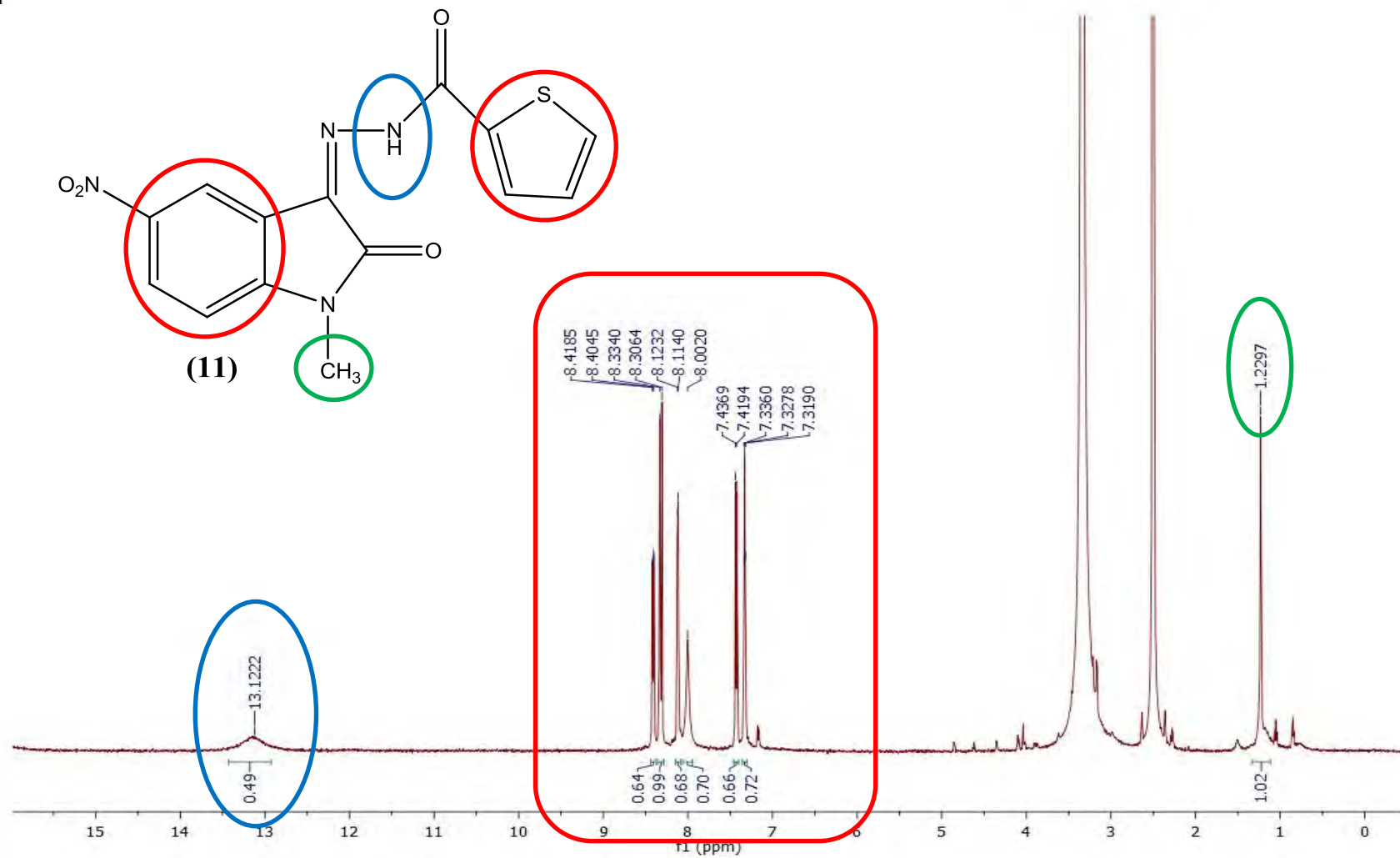
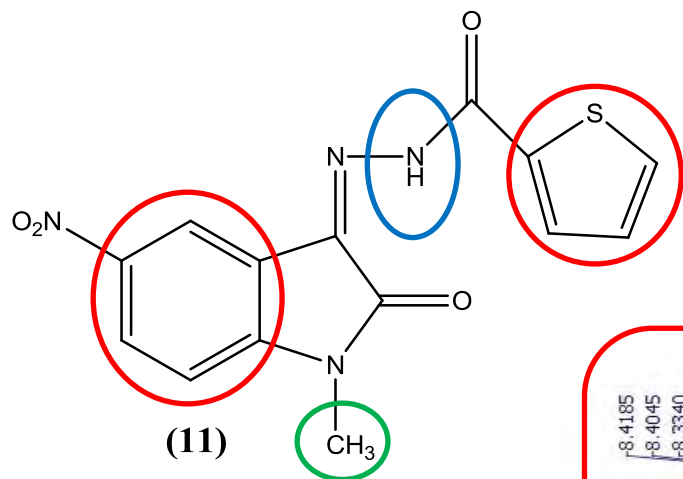
SINTESIS HIDRAZONA (11)

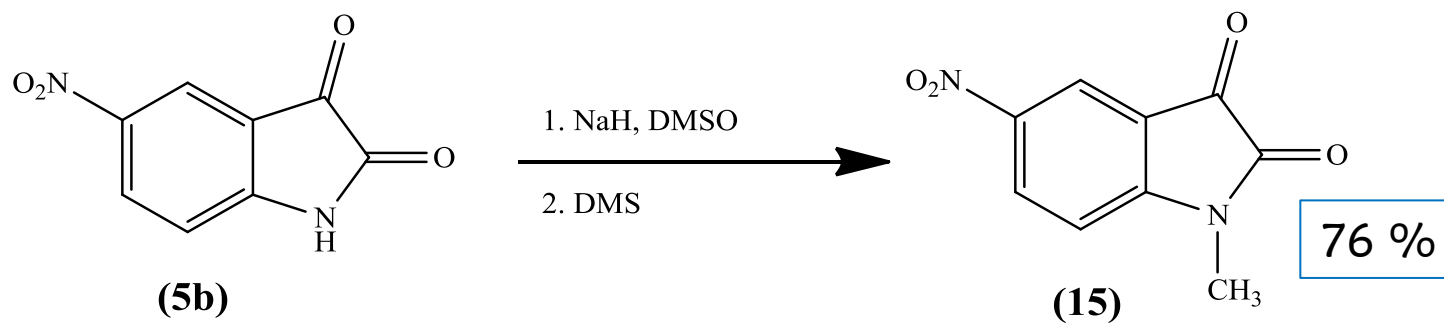
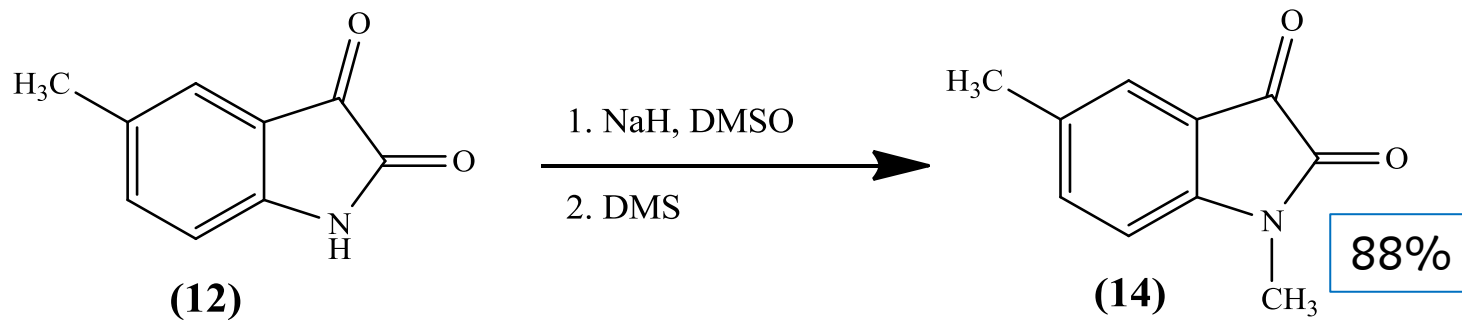


$M_r = 330,0423$

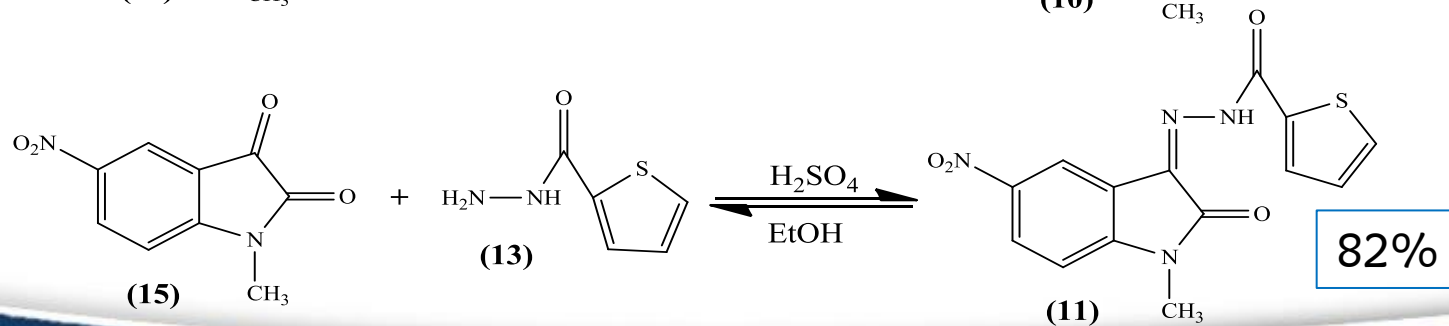
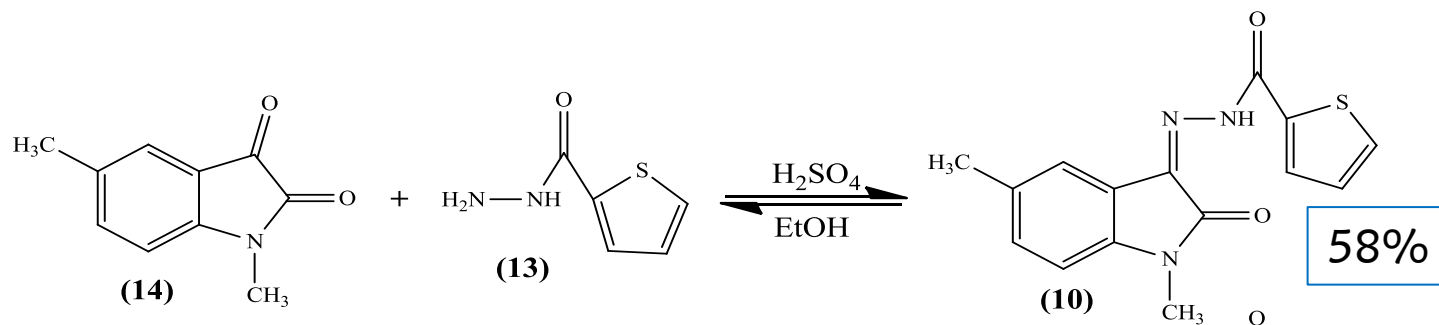
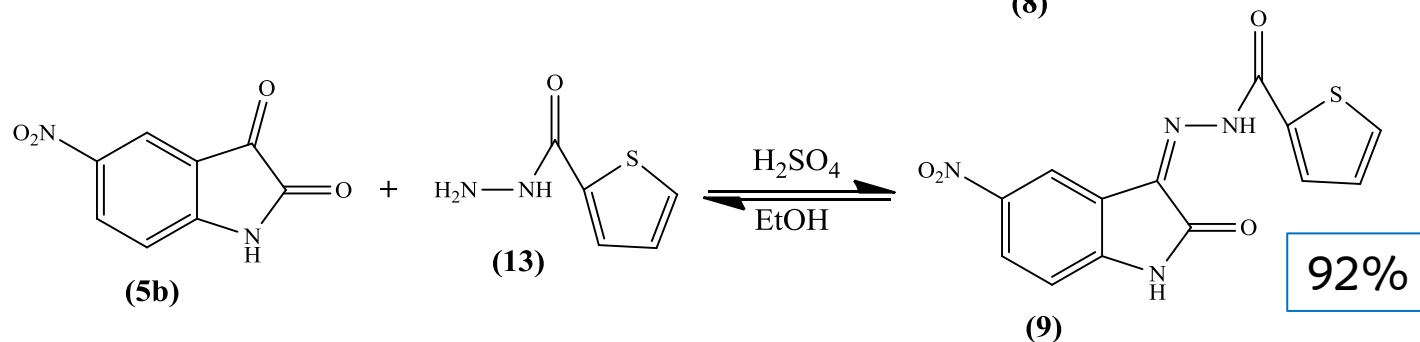
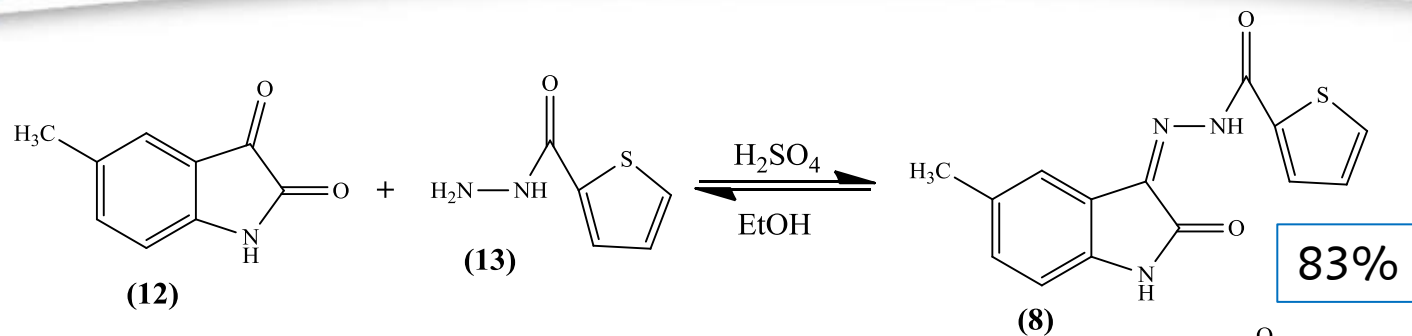
T6

SINTESIS HIDRAZONA (11)





KESIMPULAN



TERIMA KASIH



Dra. Yulfi Zetra, MS.		Penguji
Prof. Mardi Santoso, Ph.D.		Penguji, Pembimbing
Drs. R. Djarot Sugiarso, MS.		Penguji
Ratna Ediati, MS., Ph.D.		Penguji
Drs. Refdinal Nawfa, MS.		Penguji
ULP Universitas Airlangga dan Dr. Mohammad Holil		UNAIR dan PT. Gelora Djaja (Pengukuran GC-MS)
Puspa DN Lotulung, M.Sc.		P2K, LIPI (Pengukuran LCMS)
Elvira Hermawati		ITB (Pengukuran NMR)
LPPM ITS		Hibah Penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Acheson, R.M. (1976). *An Introduction to the Chemistry of Heterocyclic Compound*. New York: John Wiley and Sons. Inc.
- Ali, A. Q., Teoh, S. G., Eltayeb, N. E., Ahamed, M. B. K., Majid, A. M. S. A. (2014). Synthesis of Copper(II) Complexes of Isatin Thiosemicarbazone Derivatives: In Vitro Anti-cancer, DNA Binding, and Cleavage Activities. *Polyhedron*, Vol. 74, Hal 6-15.
- ALi, A. Q., Teoh, S. G., Salhin, A., Eltayeb, N. E., Ahmed, M. K. B., Majid, A.M.S. A. (2014). Synthesis of Isatin Thiosemicarbazones Derivatives: *In Vitro* Anti-Cancer, DNA Binding, and Cleavage Activities. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 125, Hal 440-448.
- Beckman, K. L. (2005). *Isatin Derivatives as Inhibitors of Microtubule*. Kansas: North Dakota State University.
- Bekheit, M. M., El-Shobaky, A. R., Allah, M. T. G. (2013) "Synthesis, spectroscopic characterization and antimicrobial studies of some metal complexes with 2-acetylpyridine phenoxyacetyl hydrazone (HAPPA). *Arabian Journal of Chemistry*. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535213004188#>
- Belskaya, N. P., Daehan, W., Bakulev, V.A. (2010). Synthesis and Properties of Hydrazone Bearing Amide, Thioamide, and Amidine Function. *Arkivoc (i)*, Hal 275-332.

- Cherchiaro, G. A., and Ferreira, A. M. (2005). Isatin-Schiff base Copper(II) Complexes and Their Influence on Cellular Viability . *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 17, Hal 143-144.
- Fadlan, A., Santoso, M., Ediati, R. (2014). Kompleks Tembaga(II) Dari 2-Tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-Metil)-5-Bromoisatin: Sintesis dan Uji Antibakteri. *Journal Ilmiah Berkala Sains dan Terapan Kimia*, Vol. 12, Hal 103-111.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden J.S., (1992), *Kimia Organik*, Jilid 2, Terjemahan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Edisi Kedua, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Hardjono, S. (1985). *Kromatografi*. Liberty, Yogyakarta.
- Hart, H., Hart, D.J., dan Craine, L.E. (1997), *Organic Chemistry A Short Course*, 9th edition, S. Chand & Company Ltd, New Delhi.
- Hoffman, R. (2004). *Organic Chemistry*. New Jersey: John Wiler and Sons Inc.
- Jarrahpour, A. A., Khalili, D. (2007). Synthesis of some mono- and bis-spiro- β -lactams of benzylisatin. *Tetrahedron Letters*, Vol. 48, Hal 7140-7143
- Juwita, A. Ita. (2008). Sintesis Dan Uji Bioaktivitas Kompleks Tembaga (II) 2-Tiofenakarbonilhidrazon-3-(1-Metil)-5-Kloroisatin. *Master Theses, Chemistry*
- Nathani, B. R., Pandaya, K. S., Jeni, M. M., Patel, M. R. (2011). "Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New

Isatin Derivatives". *De Pharma Chemica*, Vol. 3, Hal 367-372.

Pal, M., Sharma, N. K., Priyanka., Jha, K. K. (2011). Synthetic And Biological Multiplicity of Isatin: A Review. *Advanced Scientific Research*, Vol. 2, Hal 35-44.

Pandeya, S. N., Smitha, S., Jyoti, M., Sridhar, S. K. (2005). "Biological Activity of Isatin and Its Derivatives". *Acta Pharm*, Vol. 55, Hal 27-46.

Prakash, C. R. (2009). Synthesis and Anti-Microbial Activities of Some Novel Schiff Base of 5-Substituted Derivatives Isatin. *Rasayan J. Chem*, Vol. 2, Hal 960-968.

Rao, R., Reddy, K. R., Mahendra, K. N. (2012). "Synthesis, characterization, antibacterial, antifungal and anthelmintic activities of a new 5 - nitroisatin Schiff base and its metal complexes". *Bulgarian Chemical Communication*, Vol. 46, Hal 11-17.

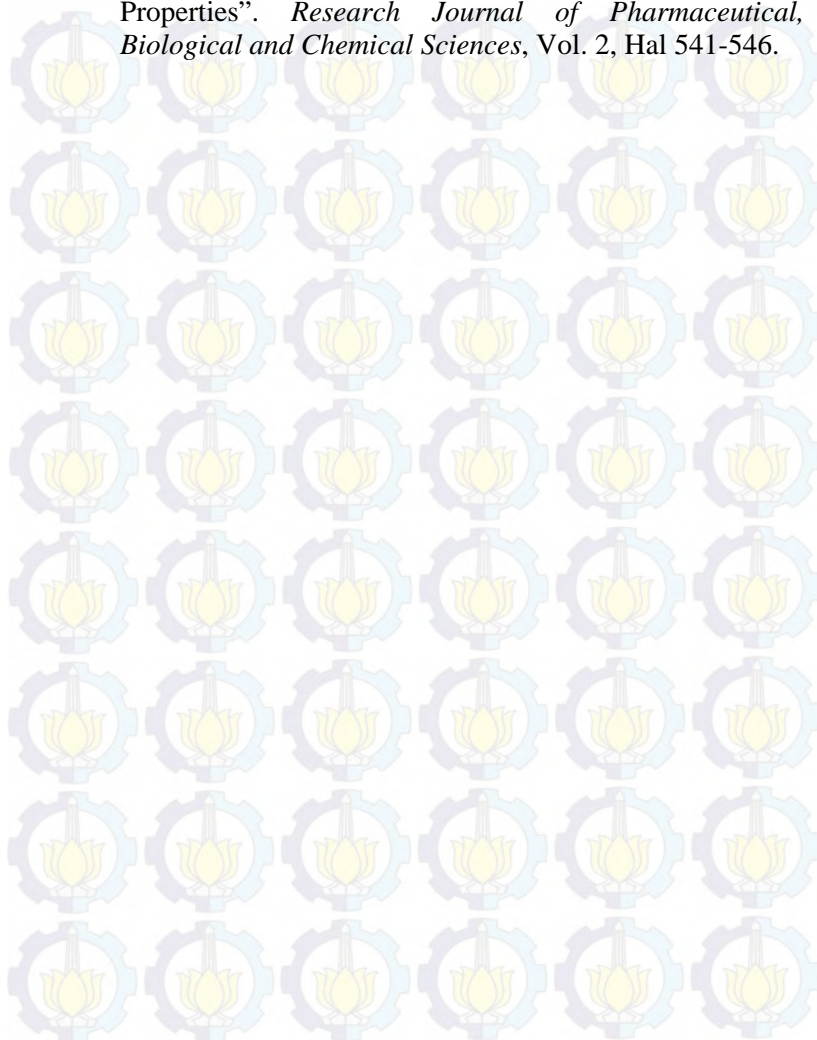
Rodriguez-Arguellez, M. C., Mozquera-Vazquez, S., Tournon-Touceda, P., Sanmartin-Matalobos, J., Garcia-Deibe, A. M., Belicchi-Ferri, M., Pelosi, G., Pelizzi, C., Zani, F. (2007). Complexes of 2-thiophenecarbonyl and isonicotinyl hydrazones of 3-(*N*-methyl)isatin. A study of their antimicrobial activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 101, Hal 138-147.

Rodriguez, M. C., Cao, R., Garcia-Deibe, A. M., Pelizzi, C., Sanmartin-Matalobos, J., Zani, F. (2009). Antibacterial and Antifungal Activity of metal(II) Complexes of Acylhydrazones of 3-Isatin and 3-(*N*-Methyl)Isatin. *Polyhedron*, Vol. 28, Hal 2187-2195.

- Rollas, S., Gulerman, N., Erdinez, H. (2002). "Synthesis and antimicrobial activity of some new hydrazones of 4-fluorobenzoic acid hydrazide and 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines. *II Farmaco*, Vol. 57, Hal 171-174.
- Rollas, S., Kucukguzel, S. G. (2007). "Biological Activity of Hydrazones Derivatives". *Molecules*, Vol. 12, Hal 1910-1939.
- Rouessac, F. A. (2007). *Chemical Analysis Modern Instrumentation Method and Techniques*. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc.
- Rudi, L. 2010. *Penuntun Dasar-Dasar Pemisahan Analitik*. Universitas Haluoleo. Kendari
- Sandra, S., Kostantinovic., Kapor, A., Radovanovic, B. C., Deak, A. (2008). Synthesis, X-Ray and Antimicrobial Activity of Isatin-3-Phenylhydrazone. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, Vol. 14, Hal 27-34.
- Sastrohamidjojo, H. (1991), "Spektroskopi", Edisi Kedua, Liberty, Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. (2001). *Kimia Dasar*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- da Silva, J. F. M., Garden, S. J., Pinto, A. C. (2001). The Chemistry of Isatins: a Review from 1975 to 1999. *Journal Brazil Chemistry Society*, Vol. 12, Hal 273-324.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., (1998), *Spectrometric Identification of Organic Compound*, sixth edition, John Wiley & Sons, Inc, US

- Silverstein, R.M., Webster, F.X., and Kiemle, D.J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th Edition. John Wiley & Sons. New York. Hal 72-108
- Singh, U.K., Pandeya, S.N., Singh, A., Srivastava, B.K., Pandey, M. (2010). "Synthesis and Antimicrobial Activity of Schiff's *N*-Mannich Base of Isatin and Its Derivatives with 4-Amino-*N*-Carbamimidoyl Benzene Sulfonamide". *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, Vol. 2, Hal 151-154.
- Solomon, G. (2010). *Organic Chemistry*. Hoboken: John Wiley and Sons Ltd.
- Sudjadi. (1985). *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Su, X., Arpahaiman, I. (2014). "Hydrazones-based Switches, metallo-assemblies and sensors". *Chem. Soc. Rev.*, Vol. 43, Hal 1963-1981.
- Unger, M., Jacobsen, W., Holzgrabe, U., Benet, L. Z. (2001). "Quantitative Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Determination of Isatin In Urine Using Automated on-line Extraction." *Journal of Chromatography*, Vol 767, Hal 245-253.
- Vine, K. L., Locke, J. M., Ranson, M., Pyne, S. G., dan Bremmer, J. B. (2007). "In Vitro Cytotoxicity of Some Substituted Isatin Derivatives". *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, Vol. 15, Hal 931-938.

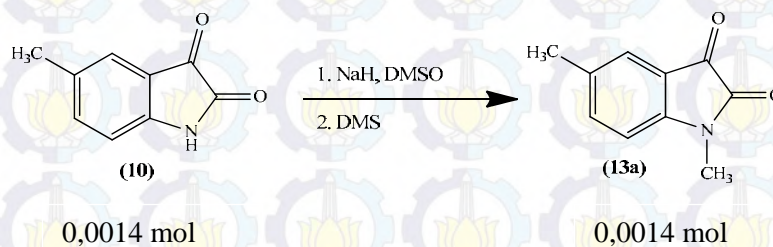
Zaranappa., Chalugaraju, KC. (2011). "Synthesis and Biological Evaluation of some Isatin derivatives for Antimicrobial Properties". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, Vol. 2, Hal 541-546.



LAMPIRAN A

PERHITUNGAN RENDEMEN

Lampiran 1. Perhitungan Rendemen Hasil 5-Metilisin (**10**)



5-Metilisin (**10**) yang bereaksi = 0,0014 mol

Mol *N*-metil-5-metilisin (**13a**) teoritis yang terbentuk

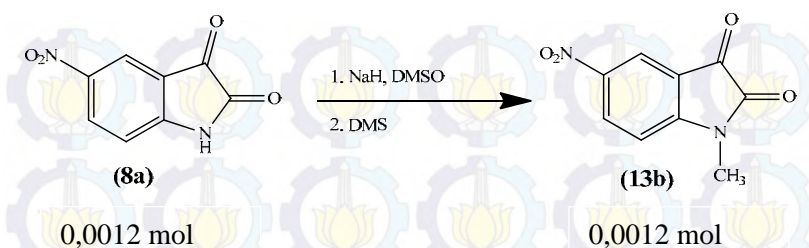
= 0,0014 mol

Massa *N*-metil-5-metilisin (**13a**) teoritis yang terbentuk

= 0,0014 mol x 161 g/mol = 0,245 gram

Rendemen yang diperoleh = $\frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teori yang diperoleh}}$

$$= \frac{0,23 \text{ gram}}{0,25 \text{ gram}} = 88\%$$

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Hasil 5-Nitroisatin (**8a**)

5-Nitroisatin (**8a**) yang bereaksi = 0,0012 mol

Mol *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) teoritis yang terbentuk

= 0,0012 mol

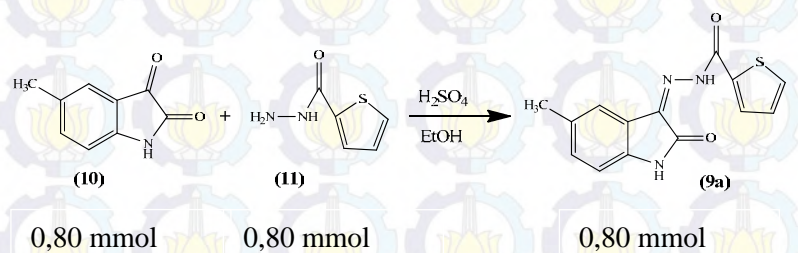
Massa *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**) teoritis yang terbentuk

= 0,0012 mol x 206 g/mol = 0,247 gram

Rendemen yang diperoleh = $\frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teori yang diperoleh}}$

$$= \frac{0,19 \text{ gram}}{0,25 \text{ gram}} = 76\%$$

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Hasil Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-metilisatin (**9a**)



5-Metilisatin (**10**) yang bereaksi = 0,80 mmol

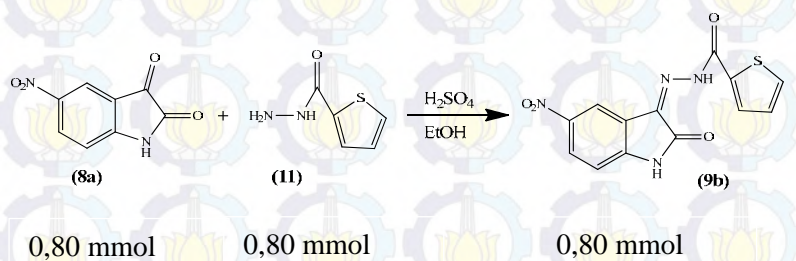
Asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) yang bereaksi = 0,80 mmol

Mol 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-metilisatin (**9a**) teoritis yang terbentuk = 0,80 mmol

Massa 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-metilisatin (**9a**) teoritis yang terbentuk = 0,80 mmol x 285 g/mol = 0,228 gram

$$\text{Rendemen yang diperoleh} = \frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teori yang diperoleh}} = \frac{0,19 \text{ gram}}{0,23 \text{ gram}} = 83\%$$

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Hasil Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-nitroisatin (**9b**)



5-Nitroisatin (**8a**) yang bereaksi = 0,80 mmol

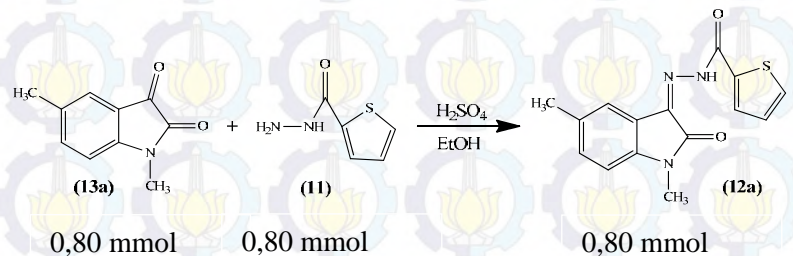
Asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) yang bereaksi
= 0,80 mmol

Mol 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-nitroisatin (**9b**) teoritis yang terbentuk = 0,80 mmol

Massa 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-nitroisatin (**9b**) teoritis yang terbentuk = $0,80 \text{ mmol} \times 316 \text{ g/mol} = 0,25 \text{ gram}$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen yang diperoleh} &= \frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teori yang diperoleh}} \\ &= \frac{0,23 \text{ gram}}{0,25 \text{ gram}} = 92\% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Hasil Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**)



5-(*N*-metil)-metilisatin (**13a**) yang bereaksi = 0,80 mmol

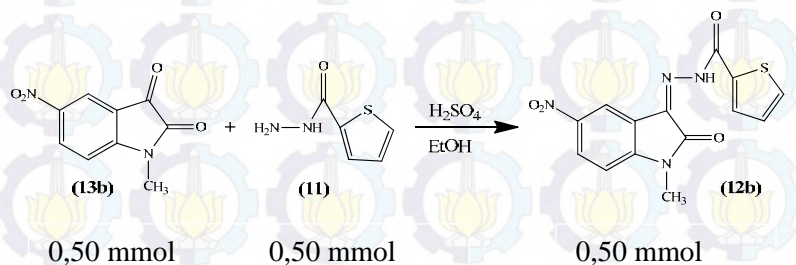
Asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) yang bereaksi
= 0,80 mmol

Mol 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**)
teoritis yang terbentuk = 0,80 mmol

Massa 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-(*N*-metil)-5-metilisatin (**12a**)
teoritis yang terbentuk = 0,80 mmol x 299 g/mol = 0,2392 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen yang diperoleh} &= \frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teoritis yang diperoleh}} \\ &= \frac{0,14 \text{ gram}}{0,24 \text{ gram}} = 58\% \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen Hasil Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5- (*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**)



5-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**13b**) yang bereaksi = 0,50 mmol

Asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) yang bereaksi
= 0,50 mmol

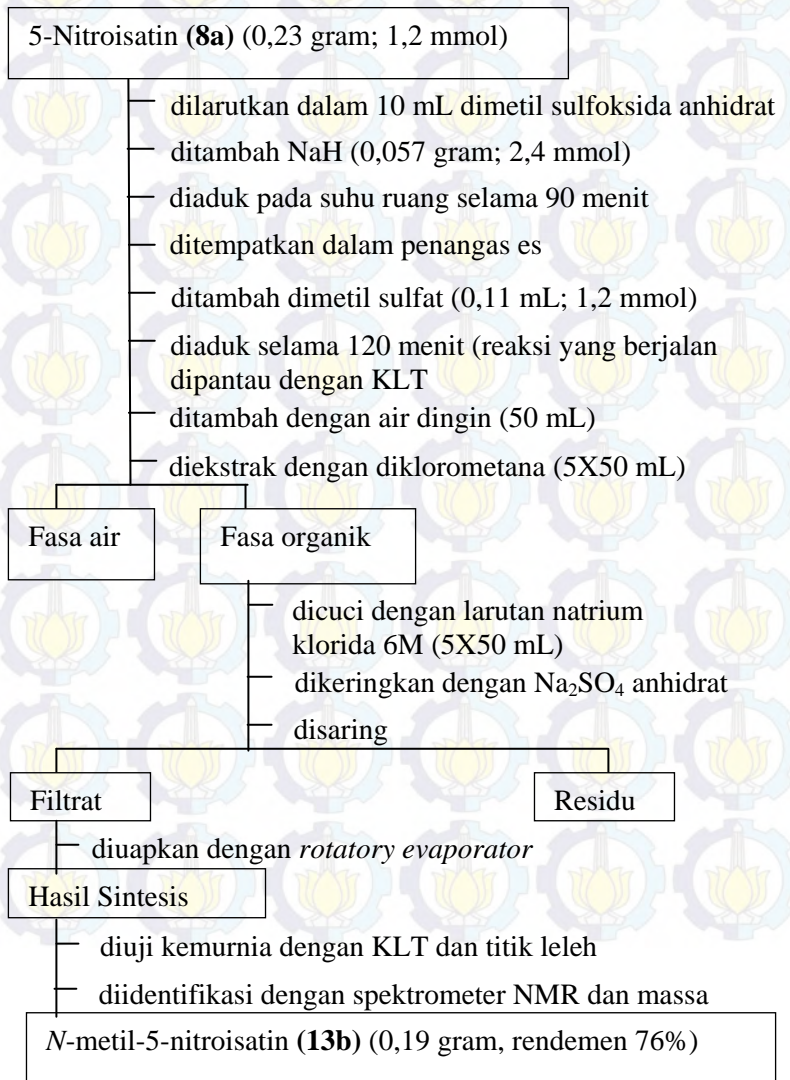
Mol 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**)
teoritis yang terbentuk = 0,50 mmol

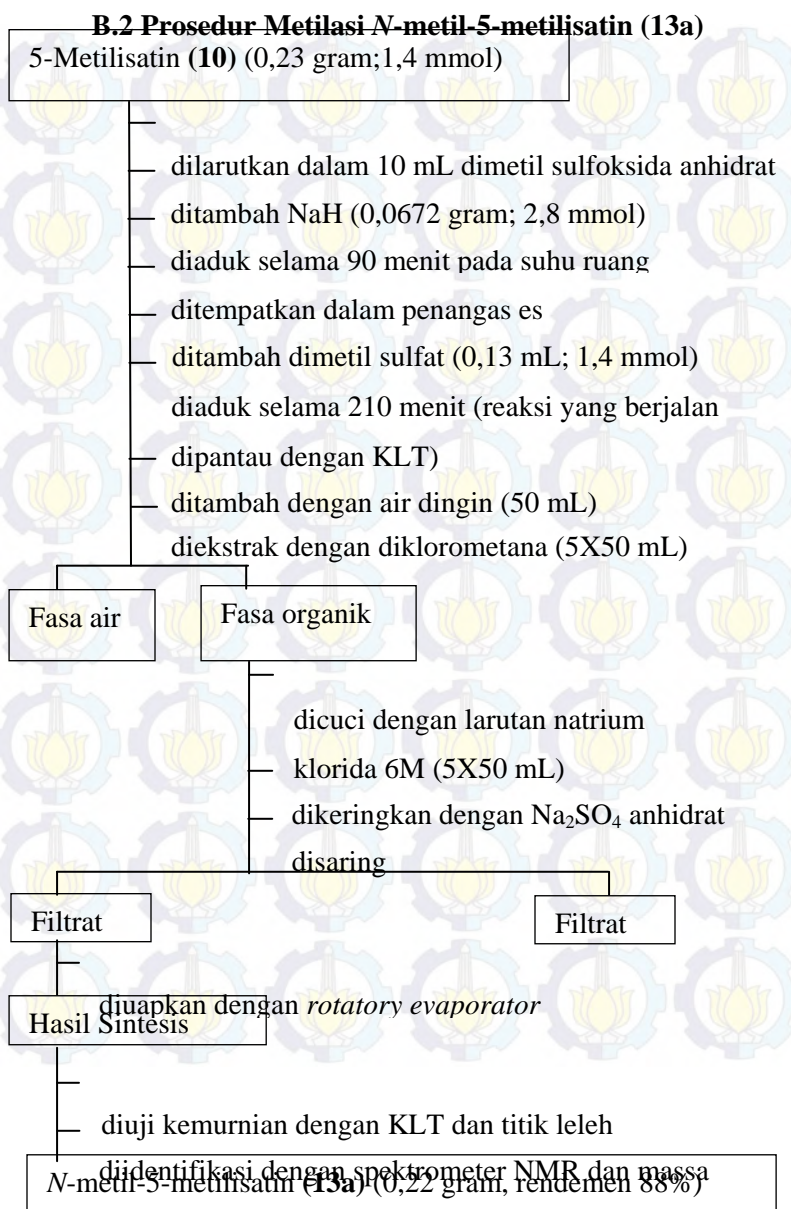
Massa 2-Tiofenakarbonilhidrazon -5-(*N*-metil)-5-nitroisatin (**12b**)
teoritis yang terbentuk = 0,50 mmol x 330 g/mol = 0,2392 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen yang diperoleh} &= \frac{\text{Massa produk yang diperoleh}}{\text{Massa teori yang diperoleh}} \\ &= \frac{0,14 \text{ gram}}{0,17 \text{ gram}} = 82\% \end{aligned}$$

LAMPIRAN B

SKEMA KERJA

B.1 Prosedur Metilasi *N*-metil-5-nitroisatin (**13b**)



B.3 Prosedur Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (9a)

5-Metilisatin (**10a**) (0,13 gram; 0,80 mmol)

- dilarutkan dalam etanol (20 mL)
- ditambah asam sulfat 3 tetes
- direfluks selama 20 menit pada suhu 78 °C
- ditambah asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol (10 mL)
- direfluks pada suhu 78 °C selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT)
- didinginkan
- diuapkan pelarutnya

Hasil Sintesis

- dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL)
- dikeringkan dalam desikator

2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9a**) (0,19 gram; rendemen 83%) *

* diuji kemurnian dengan KLT dan titik leleh, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan massa

B.4 Prosedur Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**)

5-Nitroisatin (**10b**) (0,15 gram; 0,80 mmol)

- dilarutkan dalam etanol (20 mL)
- ditambah asam sulfat 3 tetes
- direfluks selama 20 menit pada suhu 78 °C
- ditambah asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol (10 mL)
- direfluks pada suhu 78 °C selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT)
- didinginkan
- diuapkan pelarutnya

Hasil Sintesis

- dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL)
- dikeringkan dalam desikator

2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-metilisatin (**9b**) (0,23 gram; rendemen 92%) *

* diuji kemurnian dengan KLT dan titik leleh, diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan massa

B.5 Prosedur Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-(*N*-metil)-metilisatin (12a)

***N*-metil-5-metilisatin (13a)** (0,14 gram; 0,80 mmol)

- dilarutkan dalam etanol (20 mL)
- ditambah asam sulfat 3 tetes
- direfluks selama 20 menit pada suhu 78 °C
- ditambah asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,07 gram; 0,50 mmol) dalam etanol (10 mL)
- direfluks pada suhu 78 °C selama 180 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT)
- didinginkan
- diuapkan pelarutnya

Hasil Sintesis

- dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL)
- dikeringkan dalam desikator

2-Tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (12a) (0,14 gram; rendemen 58%) *

* diuji kemurnian dengan KLT dan titik leleh, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan massa

B.6 Prosedur Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-(*N*-metil)-nitroisatin (**12b**)

N-metil-5-nitroisatin (**13b**) (0,10 gram; 0,50 mmol)

- dilarutkan dalam etanol (20 mL)
- ditambah asam sulfat 3 tetes
- direfluks selama 20 menit pada suhu 78 °C
- ditambah asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**11**) (0,07 gram; 0,50 mmol) dalam etanol (10 mL)
- direfluks pada suhu 78 °C selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT)
- didinginkan
- diuapkan pelarutnya

Hasil Sintesis

- dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL)
- dikeringkan dalam desikator

2-Tiofenakarbonilhidrazon-5-nitroisatin (**9b**) (0,14 gram; rendemen 82%)

* diuji kemurnian dengan KLT dan titik leleh, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan massa

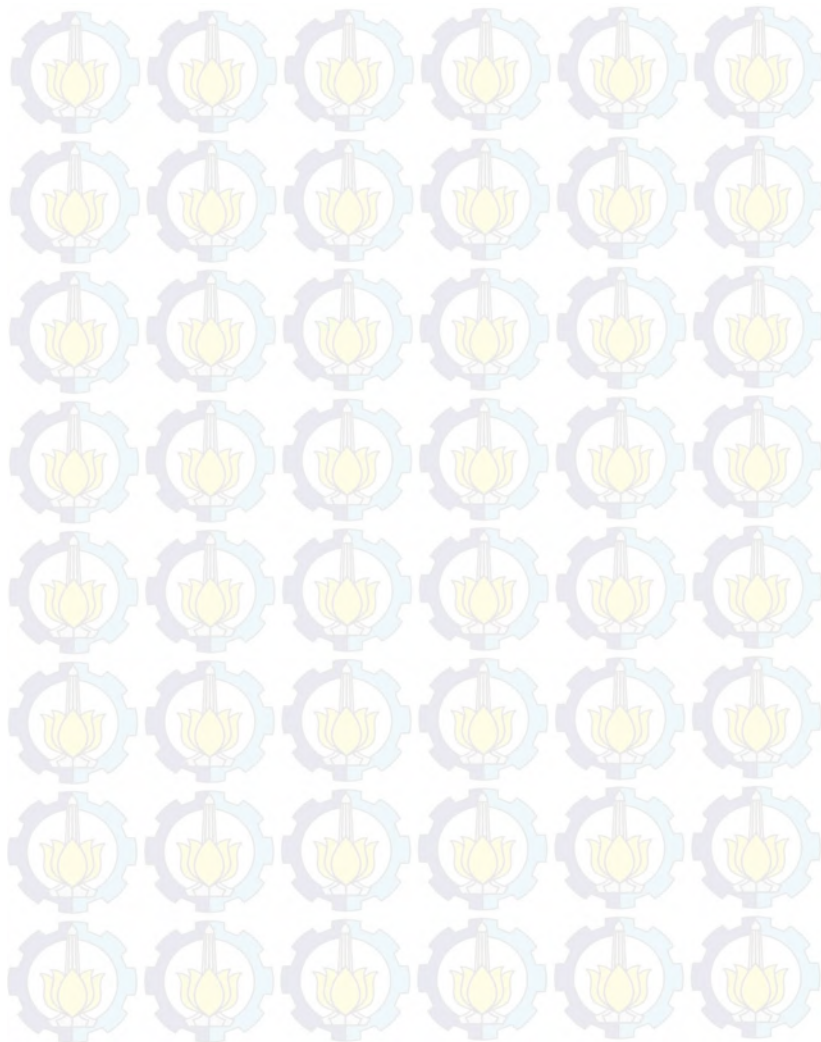
BIODATA PENULIS



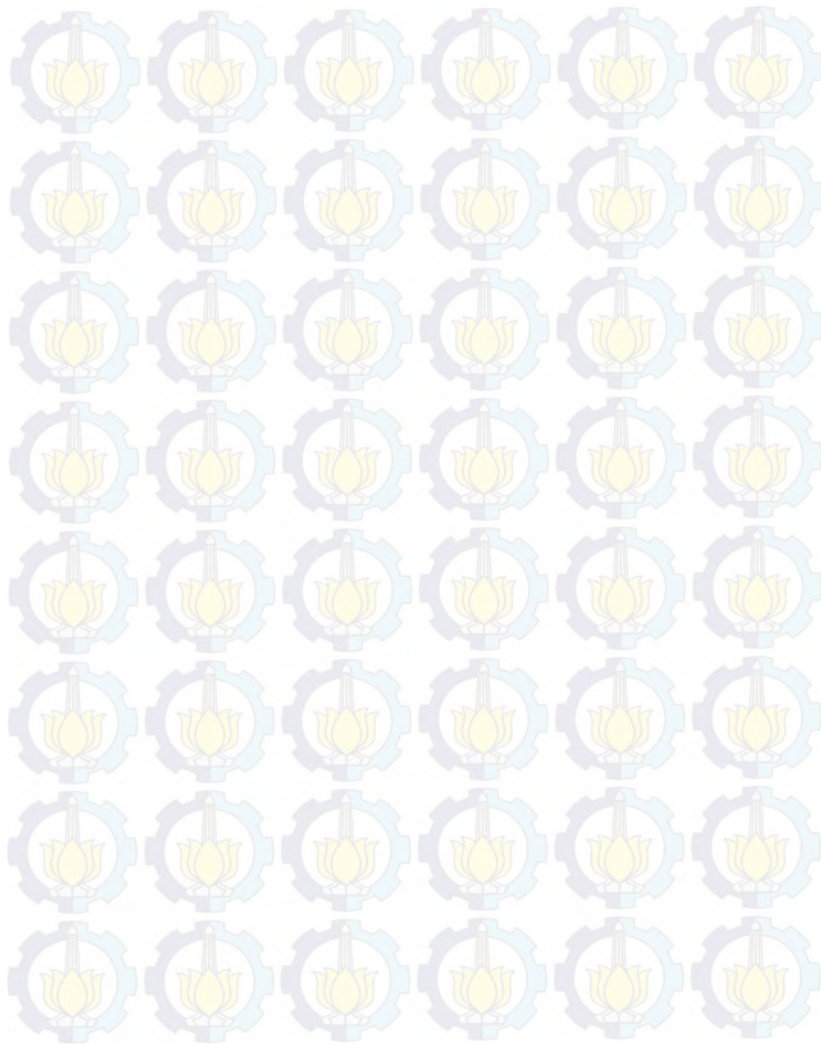
Penulis dilahirkan di Malang, 10 Juni 1993 dengan nama lengkap M. Riza Ghulam Fahmi. Pendidikan formal yang telah ditempuh oleh penulis, yaitu di SDNU Bagorejo 1 Jember, SMPN 3 Peterongan Jombang, dan SMA Darul Ulum 1 Peterongan Jombang. Setelah lulus dari SMA Darul Ulum 1 Peterongan Jombang, penulis melanjutkan pendidikan di jurusan Kimia ITS Surabaya pada tahun 2011 dan terdaftar dengan NRP. 1411 100 127. Di Jurusan Kimia ini, Penulis mengambil bidang minat Kimia Organik dibawah bimbingan Prof. Mardi Santoso, Ph.D dan Arif Fadlan M.Si. Penulis pernah aktif dalam kegiatan sosial yang diadakan oleh Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA), salah satunya yaitu HIMKA *FOR NATION*. Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa (LKMM) yang pernah diikuti penulis selama kuliah di ITS adalah Pra-Tingkat Dasar (Pra-TD). Selain Latihan Keterampilan Manajemen Mahasiswa Pra-Tingkat Dasar (LKMM Pra-TD), penulis juga pernah mengikuti pelatihan Keamanan dan Keselamatan Kerja Laboratorium yang diadakan oleh Jurusan Kimia. Penulis dapat dihubungi melalui :

No HP : 085733133017
E-mail : riza.ghulam@gmail.com

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



“Halaman ini sengaja dikosongkan”



Sintesis 2-Tiofenakarbonilhidrazona-(*N*-metil)-5-metilisin

M. Riza Ghulam Fahmi dan Mardi Santoso
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111
E-mail: tsv09@yahoo.com

Isatin merupakan prekursor untuk sintesis senyawa organik, seperti hidrazona. Hidrazona dengan gugus azometin memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri, antikanker, analgesik, antitumor, dan anti-HIV. Penelitian yang dilakukan berhasil mensintesis hidrazona baru yaitu 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisin. Hidrazona tersebut diperoleh dengan rendemen 58% dari reaksi *N*-metil-5-metilisin dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida dalam pelarut etanol dengan katalis asam sulfat. *N*-metil-5-metilisin diperoleh dari reaksi 5-metilisin dengan natrium hidrida dan dimetil sulfat dalam pelarut dimetilsulfoksida dengan rendemen masing-masing 88%. Identifikasi hasil sintesis dilakukan menggunakan spektrometer NMR dan massa.

KataKunci— Turunan Isatin, Hidrazona, Antibakteri

I. PENDAHULUAN

Pengembangan senyawa-senyawa antibakteri baru sangat diperlukan untuk mengatasi infeksi akut yang disebabkan bakteri-bakteri yang resistan terhadap obat-obat komersial [7]. Isatin merupakan senyawa dengan massa molekul kecil dengan gugus fungsi α,β -dikarbonil pada posisi C-2 dan C-3 yang diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri, analgesik, antikanker, dan antituberkulosis [13], [1]. Isatin (**1**) dan turunannya banyak dimanfaatkan sebagai prekursor dalam sintesis [3]. Keberadaan gugus *N*-metil dan gugus pensubstitusi pada C-5 dari isatin diketahui dapat meningkatkan bioaktivitas [1]. Turunan isatin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Senyawa dengan gugus pensubstitusi nitro atau metil pada C-5 atau gugus *N*-metil memiliki daya hambat terhadap *S. aureus* yang lebih baik dari pada turunan isatin tanpa gugus

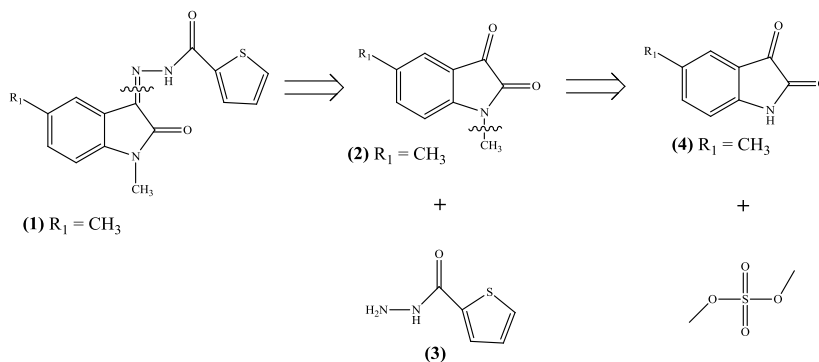
pensubstitusi dan *N*-metilpiridina [12].

Hidrazona merupakan kelompok senyawa organik dengan gugus $=C=N-N-$ diketahui memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antikanker, antitumor, anti-HIV, dan analgesik [2]. Hidrazona dengan gugus pensubstitusi C-5 gugus metil atau nitro memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* [6]. Hidrazona berupa isatin-3-fenilhidrazin memiliki bioaktivitas antibakteri yang lebih baik dari pada amoksisilin [10].

2-Tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)isatin memiliki bioaktivitas terhadap *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* yang baik dari pada (*Z*)-*N'*-(2-oksoindolin-3-ilidina)nikotino hidrazida [8]. Hal ini membuktikan bahwa hidrazona dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang baik dari pada gugus piridinil. 2-Tiofenakarbonilhidrazon-isatin dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang baik dari pada senyawa 2-furankarbonilhidrazon-isatin dengan gugus furanil. Hal ini membuktikan bahwa hidrazona dengan gugus tiofenil memiliki bioaktivitas yang lebih baik dari pada senyawa dengan gugus piridinil dan furanil [9].

Gugus pensubstitusi isatin pada posisi C-5 dan *N*-metil diketahui juga mempengaruhi aktivitas sebagai antikanker leukemia U937. 5-Nitroisatin dan 1-metilisin memiliki bioaktivitas yang lebih baik dari pada isatin dan 5-metoksiisatin [14].

Studi literatur yang telah dilakukan mendapatkan bahwa sintesis dan bioaktivitas hidrazona berupa 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisin (**1**) belum pernah dilaporkan dan diperkirakan mempunyai bioaktivitas yang baik. Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisin dapat dilakukan dengan pendekatan analisis retrosintesis seperti



Gambar 1.1 Analisa retrosintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisin (**1**)

dapat dilihat pada Gambar 1.1.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Penelitian yang dilaksanakan menggunakan alat-alat berupa erlenmeyer, gelas piala, labu alas bulat, labu leher tiga, termometer, pipet ukur, pipet tetes, pengaduk, kertas whatman No. 41, *magnetic stirrer*, *rotary evaporator* Buchi R-11, desikator, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, 1.05554), lampu UV λ 254 dan 366 nm, spektrometer NMR DELTA2_NMR JEOL RESONANCE 500 MHz, *melting point apparatus* Fischer John, alat refluks, LC-MS (ESI) Mariner Biospectrometry Hitachi L 6200 dengan kolom C18 (RP 18) Phenomenex, Agilent 6980N Network GC sistem dengan autosampler, spektrometer massa ESI Waters LCP Premier XE, GC MS HP 6890, spektrometer NMR Agilent 500 MHz untuk ¹H NMR dan 125 MHz untuk ¹³C. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah 5-metilisinatin (**4**) (Aldrich 222429), asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**3**) (Aldrich T1388), aquades, dimetil sulfoksida anhidrat (Merck 8.02912), natrium hidrida (NaH) (Aldrich 452912), dimetil sulfat (Merck 8.03071), natrium sulfat anhidrat (Merck 1.06639), etanol (Merck 1.00983), asam sulfat, diklorometana, etil asetat, aseton, dan *n*-heksana.

B. Metilasi 5-Metilisinatin

Metilasi 5-metilisinatin (**4**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur metilasi isatin [4]. 5-metilisinatin (**4**) (0,23 gram; 0,0014 mol), natrium hidrida (0,0672 gram; 0,0028 mol), dan 10 mL dimetil sulfoksida anhidrat dalam labu alas bulat diaduk pada suhu kamar selama 90 menit. Campuran selanjutnya ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,13 mL; 0,0014 mol), dan diaduk lebih lanjut selama 120 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi ditambah air dingin (50 mL), dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, dan diuapkan dalam *rotary evaporator*. Hasil sintesis selanjutnya diuji kemurnian dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi menggunakan spektrometer NMR dan MS.

C. Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-metil)-5-metilisinatin

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-metil)-5-metilisinatin (**1**) dilakukan dengan mengadaptasi prosedur sintesis isatin-2-tiofenakarbonilhidrazon [4]. Larutan *N*-metil-5-metilisinatin (**2**) (0,14 gram; 0,80 mmol) dalam 20 mL etanol ditempatkan dalam labu alas bulat, ditambah tiga tetes asam sulfat pekat, dan direfluks selama 20 menit. Larutan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**3**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam 10 mL etanol selanjutnya ditambahkan, dan larutan direfluks lebih lanjut pada suhu 78 °C selama 150 menit (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Hasil reaksi didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, kemudian diuapkan pelarutnya. Hasil yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator, diuji kemurniannya dengan KLT dan uji titik leleh, ditimbang, dan diidentifikasi dengan spektrometer NMR dan MS.

III. HASIL DAN DISKUSI

A. Metilasi 5-Metilisinatin(**2**)

Metilasi 5-metilisinatin (**4**) dilakukan dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah mereaksikan 5-metilisinatin (**4**) (0,23 gram; 0,0014 mol) dan natrium hidrida (0,0672 gram; 0,0028 mol) dalam dimetil sulfoksida anhidrat (10 mL) pada suhu kamar selama 90 menit. Tahap kedua adalah hasil reaksi pada tahap pertama ditempatkan dalam penangas es, ditambah dimetil sulfat (0,13 mL; 0,0014 mol), dan diaduk lebih lanjut pada suhu kamar (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Reaksi berjalan tuntas pada menit 210. Hasil reaksi selanjutnya ditambah aquades dingin (50 mL), dan diekstrak dengan diklorometana (5x50 mL). Fasa organik yang diperoleh digabung, dicuci dengan larutan natrium klorida 6M (5x50 mL), dikeringkan menggunakan natrium sulfat anhidrat, diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*, dan dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna merah sebanyak 0,22 gram.

Hasil reaksi metilasi 5-metilisinatin (**4**) selanjutnya diuji kemurniannya dengan KLT yang menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni, yang ditandai dengan noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh menunjukkan rentang titik leleh sebesar 136-137 °C yang memperkuat hasil uji kemurnian dengan KLT bahwa hasil sintesis merupakan senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C [5].

Identifikasi padatan hasil metilasi 5-metilisinatin (**4**) menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 9,18 menit dengan spektrum massa yang menunjukkan puncak ion molekul pada m/z 175 yang sesuai dengan massa relatif *N*-metil-5-metilisinatin (**2**).

Identifikasi padatan hasil metilasi sebagai *N*-metil-5-metilisinatin (**2**) diperkuat dengan data hasil pengukuran menggunakan spektrometer NMR dalam pelarut DMSO-*d*₆. Spektrum ¹H NMR dengan jelas menunjukkan signal singlet pada pergeseran kimia (δ) 2,69 dan 3,10 ppm yang masing-masing merupakan signal proton-proton gugus metil dan *N*-metil. Proton-proton aromatik memberikan signal doublet pada δ 7,01 ppm, singlet pada δ 7,33 ppm, dan doublet pada δ 7,46 ppm. Spektrum ¹³C NMR menunjukkan signal pada δ 20,07 dan 26,00 ppm yang masing-masing merupakan signal karbon metil pada posisi C-5 dan *N*-metil, dua karbon karbonil memberikan signal pada δ 183,65 dan 158,17 ppm, dan karbon-karbon aromatik pada pergeseran kimia 110,39; 117,29; 124,48; 132,56; 138,42; dan 149,21 ppm.

Reaksi 5-metilisinatin (**4**) (0,23 gram; 0,0014 mol), natrium hidrida (0,0672 gram ; 0,0028 mol), dan dimetilsulfat (0,13 mL; 0,0014 mol) dalam pelarut DMSO (10 mL) menghasilkan *N*-metil-5-metilisinatin (**2**) sebagai padatan merah seberat 0,22 gram atau dengan rendemen 88%.

B. Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-3-(*N*-metil)-5-metilisatin

Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**) dilakukan dengan adaptasi prosedur sintesis isatin-2-tiofenakarbonilhidrazon (Fadlan *et al.*, 2014). Sintesis 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**) dilakukan dengan merefluks pada suhu 78 °C *N*-metil-5-metilisatin (**2**) (0,14 gram; 0,80 mmol) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**3**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol (30 mL) menggunakan katalis asam sulfat (reaksi yang berjalan dipantau dengan KLT). Reaksi berjalan tuntas pada menit 150. Hasil reaksi selanjutnya didinginkan sehingga mencapai suhu kamar, dan pelarutnya diuapkan. Padatan yang diperoleh dicuci dengan etanol dingin (2x5 mL), dikeringkan dalam desikator sehingga diperoleh padatan berwarna oranye kecoklatan sebanyak 0,14 gram.

Uji kemurnian hasil sintesis menggunakan KLT menunjukkan bahwa padatan hasil reaksi merupakan senyawa murni yang ditandai dengan adanya noda tunggal pada masing-masing plat KLT. Uji kemurnian dengan uji titik leleh memberikan rentang titik leleh sebesar 184-185°C yang memperkuat hasil sintesis sebagai senyawa murni. Senyawa murni memiliki perbedaan titik leleh sebesar ± 1 °C [5].

Identifikasi padatan hasil sintesis menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (tumbukan elektron) memberikan kromatogram yang menunjukkan puncak utama dengan waktu retensi 20,61 menit dengan spektrum massa yang menunjukkan puncak ion molekul yang pada *m/z* 299 sesuai dengan massa relatif 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**).

Identifikasi hasil sintesis sebagai 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**) diperkuat dengan data pengukuran menggunakan spektrometer NMR dalam pelarut DMSO-*d*₆. Spektrum ¹H NMR menunjukkan adanya proton-proton gugus metil dan *N*-metil masing-masing pada δ 2,32 dan 3,18 ppm berupa signal singlet. Proton-proton aromatik memberikan signal doublet pada δ 7,02 (1H), doublet pada δ 7,25 (1H), triplet pada δ 7,28 (1H), singlet pada δ 7,43 (1H), singlet pada δ 7,92 (1H), dan doublet pada δ 8,04 (1H). Proton-proton dari NH hidrazida tidak terdapat pada spektrum disebabkan adanya pertukaran proton-proton dengan deuterium dari pelarut DMSO-*d*₆ [1].

Reaksi *N*-metil-5-metilisatin (**2**) (0,14 gram; 0,80 mmol) dan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**3**) (0,11 gram; 0,80 mmol) dalam etanol dengan katalis asam sulfat menghasilkan 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**) berupa padatan warna oranye kecoklatan dengan massa 0,14 gram atau dengan rendemen 58%.

IV. KESIMPULAN

Metilasi 5-metilisatin (**4**) 210 menit diperoleh *N*-metil-5-metilisatin (**2**) dengan rendemen masing-masing sebesar 88%. Hidrazona baru berupa 2-tiofenakarbonilhidrazon-(*N*-metil)-5-metilisatin (**1**), berhasil disintesis dari reaksi 5-*N*-metil-5-metilisatin (**2**) dengan asam 2-tiofenakarboksilat hidrazida (**3**) menggunakan katalis asam sulfat yang membutuhkan waktu

selama 150 menit dengan rendemen masing-masing sebesar 58%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Prof. Dr. Mardi Santoso dan Arif Fadlan, S. Si, M. Si selaku dosen pembimbing, serta semua pihak yang turut membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ali, A. Q., Teoh, S. G., Eltayeb, N. E., Ahamed, M. B. K., Majid, A. M. S. A. (2014). Synthesis of Copper(II) Complexes of Isatin Thiosemicarbazone Derivatives: In Vitro Anti-cancer, DNA Binding, and Cleavage Activities. *Polyhedron*, Vol. 74, Hal 6-15.
- [2] Belskaya, N. P., Daehan, W., Bakulev, V.A. (2010). Synthesis and Properties of Hydrazone Bearing Amide, Thioamide, and Amidine Function. *Arkivoc (i)*, Hal 275-332.
- [3] Cherchiaro, G. A., and Ferreira, A. M. (2005). Isatin-Schiff base Copper(II) Complexes and Their Influence on Cellular Viability. *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 17, Hal 143-144.
- [4] Fadlan, A., Santoso, M., Ediati, R. (2014). Kompleks Tembaga (II) dari 2-Tiofenakarbonilhidrazona-3-(*N*-metil)-5-bromoisatin: Sintesis dan Uji Antibakteri. *Sains dan Terapan Kimia*, 8, 2, 103-111
- [5] Juwita, A. Ita. (2008). Sintesis Dan Uji Bioaktivitas Kompleks Tembaga (II) 2-Tiofenakarbonilhidrazon-3-(1-Metil)-5-Kloroisatin. *Master Theses, Chemistry*
- [6] Nathani, B. R., Pandaya, K. S., Jeni, M. M., Patel, M. R. (2011). "Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New Isatin Derivatives". *De Pharma Chemica*, Vol. 3, Hal 367-372.
- [7] Prakash, C. R. (2009). Synthesis and Anti-Microbial Activities of Some Novel Schiff Base of 5-Substituted Derivatives Isatin. *Rasayan J. Chem*, Vol. 2, Hal 960-968.
- [8] Rodriguez-Arguelles, M. C., Mosquera-Vazquez, S., Touron-Touceda, P., Sanmartin-Matalobos, J., Gracia-Deibe, A. M., Belicchi-Ferrari, M., Pelosi, G., Pelizzi, C., Zani, F. (2007). Complexes of 2-thiophenecarbonyl and isonicotinoyl hydrazones of 3-(*N*-methyl)isatin. A study of their antimicrobial activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101, 138-147
- [9] Rodriguez-Arguelles, M. C., Cao, R., Garcia-Deibe, A. M., Pelizzi, C., Sanmartin-Matalobos, J., Zani, F. (2009). Antibacterial and antifungal activity of metal (II) complexes of acylhydrazones of 3-isatin and 3-(*N*-methyl)isatin. *Polyhedron*, 28, 2187-2195
- [10] Sandra, S., Kostantinovic., Kapor, A., Radovanovic, B. C., Deak, A. (2008). Synthesis, X-Ray and Antimicrobial Activity of Isatin-3-Phenylhydrazone.

Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, Vol. 14, Hal 27-34.

- [11] Silverstein, R. M., Webster, F. X., (1998), *Spectrometric Identification of Organic Compound*, sixth edition, John Wiley & Sons, Inc, US
- [12] Singh, U.K., Pandeya, S.N., Singh, A., Srivastava, B.K., Pandey, M. (2010). "Synthesis and Antimicrobial Activity of Schiff's *N*-Mannich Base of Isatin and It's Derivatives with 4-Amino-*N*-Carbamimidoyl Benzene Sulfonamide". *International Jurnal of Pharmaceutical Science and Drug Research*, Vol. 2, Hal 151-154.
- [13] Unger, M., Jacobsen, W., Holzgrabe, U., Benet, L. Z. (2001). "Quantitative Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Determination of Isatin In Urine Using Automated on-line Extraction." *Journal of Chromatography*, Vol 767, Hal 245-253.
- [14] Vine, K. L., Locke, J. M., Ranson, M., Pyne, S. G., Bremmer, J. B. (2007). In *Vitro Cytotoxicity Evaluation of Some Substitued Isatin Derivatives. Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 931-938